

A búza réztoleranciáját és a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációját befolyásoló lókuszok térképezése

Ph. D. értekezés
SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
Természettudományi Kar
Biológia Doktori Iskola

Készítette:
Bálint András Ferenc

Témavezető: Dr. Galiba Gábor, az MTA doktora

Magyar Tudományos Akadémia
Mezőgazdasági Kutatóintézete
Genetika és Növényélettan Osztály
Martonvásár

Institute of Plant Genetics and Crop Plant
Research (IPK)
Genebank
Resources Genetics and Reproduction
Group, Gatersleben
Németország

2005

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1. A réz és a nehézfémek jelentősége	3
2.2. A réz és a talaj	3
2.2.1. Természetes talajok réztartalma	3
2.2.2. Antropogén hatásnak kitett talajok Cu-tartalma	4
2.2.3. A réz sorsa a talajban	5
2.2.4. A rézszennyezett talajok hasznosítása és megtisztítása	6
2.3. A réz és a növényi tápelemek jelentősége a növények életében	7
2.3.1. Makro- és mikroelemek	7
2.3.2. A réz szerepe a növények életében	7
2.3.3. A réz és az esszenciális tápelemek koncentrációja a búzában	8
2.4. A nehézfémek felvétele és szállítása a növényekben	8
2.4.1. A réz felvétele a talajból	8
2.4.2. A réz szállítása a növényekben	10
2.4.3. Nehézfém-transzporter fehérjék	11
2.4.4. A réz szállítása a sejten belül	12
2.5. Nehézfémstressz - a réz toxikus hatása	13
2.5.1. A réztoxicitás mechanizmusa és többlet réz hatása a búzanövényre	13
2.5.2. Alapvető védekezési stratégiák a réz toxikus hatása ellen	14
2.5.3. A nehézfém-toleranciában specifikus szerepet játszó fehérjék és szerves savak	17
2.5.3.1. Metallothioneinek (MTs)	17
2.5.3.2. Fitokelatinok (PCs)	18
2.5.3.3. Egyéb intracelluláris fémkötő ligandumok: szerves savak	19
2.6. A gabonafélék réztoleranciájának és mikroelem felvételének genetikai kontrollja	19
2.7. A réztolerancia genetikai és fizikai térképezésére alkalmas módszerek	21
2.7.1. Genetikai markerek	21
2.7.2. Mikroszatellit (SSR) markerek alkalmazása	22
2.7.3. Térképezési populációk	23
2.7.4. Genetikai kapcsoltsági térkép elkészítése	25
2.7.5. Kvantitatív jellegek térképezése	25
2.7.5.1. Kvantitatív jellegek fogalma	25
2.7.5.2. A LOD-szignifikancia küszöbérték meghatározására alkalmas módszerek	28
2.7.6. Szubsztitúciós, deléciós vonalak és egyéb citogenetikai anyagok felhasználása	29
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	31
3.1. Vad és termesztett gabonagenotípusok réztoleranciájának tesztelése vízkultúrában	31
3.1.1. Réztolerancia teszt	31
3.1.2. Fluoreszcencia indukció mérése és az elemtartalmak meghatározása	33
3.2. Talajos tesztelési rendszer kidolgozása búzafajták réztoleranciájának vizsgálatához	33
3.2.1. Szabadtéri kísérlet	33
3.2.2. Fitotronkamrás kísérlet	34
3.3. Szubsztitúciós sorozatok szülői vonalainak réztolerancia tesztje vízkultúrában és talajos rendszerben	34
3.4. 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat és a búza-rozs szubsztitúciók réztoleranciájának tesztelése	36

3.5. 'Chinese Spring' 5A és 5D deléciós vonalak réztoleranciájának tesztelése és térképezése mikroszatellit markerekkel.....	37
3.5.1. Réztolerancia teszt.....	37
3.5.2. Mikroszatellit (SSR) analízis.....	38
3.5.2.1. DNS izolálás a mikroszatellit analízishez.....	38
3.5.2.2. Az izolált DNS koncentrációjának meghatározása.....	38
3.5.2.3. Térképezéshez felhasznált mikroszatellit markerek.....	38
3.5.2.4. Polimeráz láncreakció (PCR).....	39
3.5.2.5. Amplifikált fragmentek analízise.....	39
3.6. Búza <i>Aegilops tauschii</i> introgressziós vonalak réztoleranciájának tesztelése..	40
3.7. Az 'ITMI' búza térképezési populáció réztolerancia tesztelése és ásványi összetétel vizsgálata.....	40
3.7.1. A rekombináns vonalak és a szülők réztoleranciájának tesztelése.....	41
3.7.2. A hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációk meghatározása.....	41
3.7.3. QTL-analízis.....	42
3.8. 'Chinese Spring' 5A és 5B egy kromoszómára rekombináns (SCR) térképezési populációk réztoleranciájának tesztelése és térképezése mikroszatellit markerekkel.....	42
3.8.1. Réztolerancia teszt.....	42
3.8.2. Mikroszatellit (SSR) analízis.....	43
3.8.3. Kapcsoltsági térkép elkészítése és QTL analízis.....	43
3.9. A 'Chinese Spring' (réztoleráns) és 'Synthetic R93' (érzékeny) búzafajta terméskomponenseinek vizsgálata kontroll és 1500 mg/kg rezet tartalmazó talajon.....	44
3.10. Statisztikai analízis.....	44
3.10.1. Variancia analízis.....	44
3.10.2. Korreláció-analízis.....	44
3.10.3. Fenotípusos adatok eloszlásának vizsgálata.....	45
4. EREDMÉNYEK.....	46
4.1. Gabonagenotípusok réztoleranciájának vizsgálata.....	46
4.1.1. Szárazanyagproduktó kontroll és rezkezelt körülmények között.....	46
4.1.2. Fluoreszcencia indukció.....	47
4.1.3. Hajtás Cu-koncentrációk.....	48
4.1.4. Hajtás Fe-koncentrációk.....	50
4.1.5. Réztolerancia.....	50
4.1.6. Korreláció a vizsgált paraméterek között.....	52
4.2. Búza réztoleranciáért felelős gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása.....	52
4.2.1. Talajos tesztelési rendszer kidolgozása.....	52
4.2.2. Szubsztitúciós sorozatok szülői vonalainak vizsgálata.....	54
4.2.3. A réztoleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat segítségével.....	55
4.2.4. Az 5A kromoszóma Cu-toleranciát befolyásoló szerepének megerősítése búza/rozszubsztitúciók réztoleranciájának tesztelésével	57
4.3. A búza réztoleranciát befolyásoló gének fizikai térképezése 'Chinese Spring' 5A és 5D deléciós vonalak felhasználásával.....	58
4.3.1. 5A deléciók vizsgálata.....	58
4.3.1.1. A deléciós vonalak térképezése mikroszatellit (SSR) markerekkel.....	58
4.3.1.2. Az 5A deléciós vonalak és a 'Chinese Spring' Cu-toleranciájának tesztelése...	59
4.3.2. 5D deléciók vizsgálata.....	60

4.3.2.1. A deléciós vonalak térképezése mikroszatellit (SSR) markerekkel.....	60
4.3.2.2. Az 5D deléciós vonalak és a 'Chinese Spring' Cu-toleranciájának vizsgálata...	61
4.4. Réztoleranciát befolyásoló lókuszok térképezése introgressziós vonalak és térképezési populációk felhasználásával.....	62
4.4.1. Réztolerancia térképezése introgressziós vonalak segítségével a 3D kromoszómán.....	62
4.4.2. 'CS(<i>T.spelta</i> 5A)' x 'CS(Cheyenne5A)' egy kromoszómára rekombináns (SCR) búza térképezési populáció réztoleranciájának vizsgálata.....	64
4.4.2.1. Az 5A kromoszóma térképezése mikroszatellit markerekkel.....	64
4.4.2.2. A fenotípusos adatok értékelése.....	65
4.4.2.3. A Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA módszerrel.....	67
4.4.3. 'CS' x 'CS(Cheyenne5B)' egy kromoszómára rekombináns búza térképezési populáció réztoleranciájának vizsgálata.....	68
4.4.3.1. Az 5B kromoszóma térképezése mikroszatellit markerekkel.....	68
4.4.3.2. Az 5B kromoszóma genetikai térképe.....	69
4.4.3.3. A fenotípusos adatok értékelése.....	71
4.4.3.4. A Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA módszerrel.....	72
4.4.3.5. A Cu-tolerancia intervallum térképezése.....	73
4.4.4. A Cu-toleranciát és a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat befolyásoló lókuszok térképezése az 'ITMI' búza térképezési populáción.....	74
4.4.4.1. A fenotípusos adatok értékelése.....	74
4.4.4.2. Intervallum térképezés.....	76
4.4.4.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése single marker ANOVA módszerrel.....	77
4.5. A 'Chinese Spring' (toleráns) és 'Synthetic R93' (érzékeny) búzafajta agronómiai jellegeinek vizsgálata kontroll és 1500 mg/kg rezet tartalmazó talajon	81
5. ÉRTÉKELÉS.....	82
5.1. Cu-toleráns és érzékeny genotípusok keresése búza- és búzarokonfajok között.....	82
5.2. A réztoleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása.....	82
5.2.1. Nagyszámú genotípus Cu-toleranciájának tesztelésére alkalmas talajos növénynevelési rendszer kidolgozása.....	82
5.2.2. A Cu-toleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása.....	83
5.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok fizikai és genetikai térképezése deléciós és introgressziós vonalak, valamint térképezési populációk felhasználásával.....	85
5.3.1. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5A kromoszómán.....	85
5.3.2. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5B kromoszómán.....	86
5.3.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5D kromoszómán.....	87
5.3.4. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése a 3D kromoszómán 'Chinese Spring'- <i>Aegilops tauschii</i> introgressziós (közel izogén) vonalak vizsgálatával.....	88
5.3.5. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 1A, 4A, 2D és 7D kromoszómákon.....	88
5.4. A hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat és a Cu-akkumuláló képességet befolyásoló lókuszok térképezése.....	88
5.5. Réztoleráns búzafajták felhasználása.....	90
5.5.1. Rézszennyezett talajok hasznosítása.....	90
5.5.2. Rézszennyezett talajok megtisztítása.....	91

5.6. A réztolerancia feltételezett mechanizmusa.....	91
5.6.1 Az 5-ös homeológ csoport szerepe.....	91
5.6.2. Védekezés a kizárási mechanizmussal.....	92
5.6.3. Védekezés a tolerancia mechanizmussal.....	93
6.1. ÖSSZEFOGLALÁS.....	95
6.2. SUMMARY.....	98
6.3. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	101
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	102
8. FÜGGELÉK.....	117

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AFLP: **A**mplified **F**ragment **L**enght **P**olymorphism (amplifikált fragmentek hossz polimorfizmusa)

ANOVA: **A**nalysis of **V**ariance (variancia analízis)

bp: **b**ázis**p**ár

ca.: *cirka* (latin, jelentése: körülbelül, mintegy)

CD: *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Cappelle Desprez'

Ch: *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Cheyenne'

cM: centimorgan

CS: *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Chinese Spring'

DH: **d**i**h**aploid

DNS: **d**eoxi-**r**ibonukleinsav

DW: **D**ry **W**eight (szárztömeg)

EDTA: **E**thylene-**d**iamine-**t**etra-**a**cetic-**a**cid (Etilén-diamin-tetraecetsav)

F_v/F_m : a kettes fotoszisztéma (PSII) maximális kvantumhasznosítása ($F_{\text{variable}}/F_{\text{maximum}}$)

H: *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Hope'

ITMI: **I**nternational **T**riticeae **M**apping **I**nitiative

LHCII: **L**ight **H**arvesting **C**omplex **I**I (II. fénygyűjtő komplex)

LOD: **L**ogarithm of **O**dds

LR: **L**ikelihood **R**atio

M: mol/dm³

MT: **M**etalothionein (metallotionein)

NT: **N**ulliszóma**s**-**t**etraszóma**s**

PC: **P**hyto**c**helatine (fitokelatin)

PCR: **P**olymerase **C**hain **R**eaction (polimeráz láncreakció)

PSII: **P**hotosystem **I**I. (kettes fotoszisztéma)

QTL: **Q**uantitative **T**rait **L**ocus (mennyiségi jelleget meghatározó lókuszt)

RAPD: **R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**NA (véletlenszerűen amplifikált polimorf DNS)

RFLP: **R**estriction **F**ragment **L**enght **P**olymorphism (restrikciósfragment hossz polimorfizmus)

RH: **R**elative **H**umidity (relatív páratartalom)

RIL: **R**ecombinant **I**nbred **L**ine (rekombináns beltenyésztett vonal)

SCR(L): **S**ingle **C**hromosome **R**ecombinant (**L**ines) (egy kromoszómára rekombináns vonalak)

SNP: **S**ingle **N**ucleotide **P**olymorphism

SSR: **S**imple **S**equences **R**epeat (egyszerű szekvencia ismétlődés, mikroszatellit)

TI: **T**olerancia **I**ndex, az adott paraméter (pl. száraztömeg) kezelt és kontroll körülmények között mért értékének a hányadosa

Tsp: *Triticum aestivum* ssp. *spelta* (tönköly)

8. FÜGGELÉK

8.1. táblázat. A szubsztitúciós sorozatok réztolerancia tesztelésénél alkalmazott ültetési rend a véletlen blokkelrendezésű kísérletekben

8.1A. táblázat. Első ismételés (kontroll I. és kezelt I.):

CS	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H
CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B

8.1B. táblázat. Második ismételés (kontroll II. és kezelt II.):

B	B	Ch	Cs	Ts	H	CD	CD	H	B	Ch	Cs	Ts	CD	Ch
Ts	Ch	B	CD	Cs	Cs	Ch	B	Cs	CD	H	H	Ts	H	Ts

8.1C. táblázat. Harmadik ismételés (kontroll III. és kezelt III.):

Ts	CD	B	Ch	Cs	Ts	Ts	H	Ch	B	B	Ch	CD	H	B
H	H	Cs	CD	Ch	B	Cs	CD	Ch	Ts	Ts	Cs	CD	Cs	H

Rövidítések: Ch = 'Cheyenne', CD = 'Cappelle Desprez', B = 'Bánkúti1201', Ts = *Triticum spelta*, H = 'Hope', CS = 'Chinese Spring'.

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

A búza (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) potenciális termőképességét a különböző biotikus és abiotikus stressztényezők jelentősen csökkenthetik. Az abiotikus stressztényezők közül a szárazság, a hideg/fagy és a sós környezet mellett egyre növekvő problémát okoz a nehézfémek toxikus mértékű felhalmozódása a talajban. A nehézfémek ugyan természetes alkotórészei az ökoszisztémának, de feldúsulásuk a talajban gyakran antropogén hatások következménye, mely a növények károsodásához vezethet. A mezőgazdaságilag fontos növények szempontjából a legkritikusabb az Al-, B-, Mn- és Cu-toxicitás előfordulása (Foy és mtsai., 1978; Foy, 1983a, b). A nehézfém-szennyezett talajokon a termés-csökkenés elkerülése vagy a talajok nehézfém-tartalmának csökkentésével, vagy nehézfém-toleráns fajták előállításával valósítható meg. A növények által felvett nehézfémek a tápláléklánc révén az ember egészségét is veszélyeztethetik (Angelone és Bini, 1992; Hough és mtsai., 2004), ezért a takarmány vagy emberi táplálkozási célból termesztett ideális nehézfém-toleráns növény sem a hajtásában, sem a szemtermésében nem akumulálja a toxikus mennyiségben a nehézfémeket. A toleráns és hajtás-nehézfém-akkumuláló növényeknek a szennyezett talajok olcsó megtisztításában lehet nagy jelentősége (*phytoremediation*) (Salt és mtsai., 1998).

A gabonafélék szemterméséből készült élelmiszerek az összes előállított élelmiszer 50 %-át teszik ki, azonban a közönséges búza szemtermése az optimálishoz képest nagyon kevés esszenciális Fe-t és Zn-t, valamint szintén kevés Cu-t és Mn-t tartalmaz (Salunkhe és Desphande, 1991). Így bár a nehézfém-szennyezett talajokon termesztett növényeknél a fogyasztásra szánt növényi részek nehézfém-tartalmát alacsonyan kell tartani, azonban nem szennyezett talajokon termesztett növények esetében bizonyos elemekből (Fe, Mn, Cu, Zn) a szemtermés ásványi elem-koncentrációjának a növelése lenne kívánatos.

Toleráns és hajtás-akkumuláló, ill. kedvezőbb ásványi elem összetételű genotípusok azonosítására a génbankokban tárolt több ezer gabonagenotípus tesztelése nyújt lehetőséget. Az ilyen tesztelések azonban hosszú időt vesznek igénybe, mely tesztek genetikai markerek alkalmazásával jelentősen lerövidíthetők. Ehhez olyan genetikai markereket kell azonosítani, melyek a szelektálni kívánt jelleggel - pl. tolerancia-, vagy hajtás-nehézfém-akkumuláló karakter - kapcsolatosan öröklődnek. Így a későbbiekben a genotípusok hosszas tesztelése helyett elég csak az adott markert megvizsgálni, mely alapján gyorsan megjósolható, hogy az adott genotípus a kívánt karaktert hordozza-e, vagy sem. A markerrel segített szelekció (*MAS: Marker Assisted Selection*) révén jelentősen lerövidíthető a megfelelő genotípusok kiválogatása, igaz, első lépésben az adott tulajdonságot befolyásoló lókuszokat – illetve a kapcsolatosan öröklődő markereket – azonosítani kell.

Gabonaféléknél az Al- (Gallego és Benito, 1997; Aniol, 2004) és B-tolerancia (Jefferies és mtsai., 1999, 2000) genetikája egy intenzíven kutatott terület, ezzel szemben a Cu-tolerancia genetikájáról mindeddig kevés információ áll rendelkezésre. Munkánk célja ezért a búza réztoleranciájára hatást gyakorló kromoszómák és QTL-ek meghatározása volt. Terveztük továbbá a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat befolyásoló lókuszok azonosítását, és a réztoleráns búzák gyakorlati felhasználási lehetőségének vizsgálatát. A fentiek elérése érdekében a következő feladatok elvégzését tűztük ki célul:

1. Réztoleráns és érzékeny búzagenotípusok azonosítása, a búza réztoleranciájának összevetése a közeli rokon gabonafajokkal.
2. Nagyszámú genotípus – térképezési populációk – tesztelésére alkalmas vizsgálati rendszer kidolgozása.
3. Citogenetikai anyagok – pl. szubsztitúciós sorozatok – réztoleranciájának tesztelésével a réztolerancia kromoszomális lokalizációjának meghatározása, és a kromoszomális lokalizáció ismeretében megfelelő genetikai anyagok – deléció, introgresszió, rekombináns beltenyésztett vonalak, stb. – felhasználásával a réztoleranciát befolyásoló lókuszok meghatározása.
4. Rekombináns vonalakon elvégzett hajtás Cu-tartalom vizsgálatokkal a hajtásba történő Cu-transzlokációt befolyásoló lókuszok azonosítása kontroll és rézkezelt talajon nevelt növényeknél.
5. A humántáplálkozás szempontjából fontos mikroelemek – Fe, Mn, Zn – hajtás koncentrációját befolyásoló lókuszok azonosítása kontroll, és rézkezelt talajon nevelt növényeknél.
6. A rézkezelt növényeken elvégzett hajtás Cu-koncentráció vizsgálatok segítségével annak a meghatározása, hogy a búza a nehézfémfelvétel korlátozásával (elkerülési-stratégia), vagy a felvett többlet nehézfém semlegesítésével (tolerancia-stratégia) védekezik a réz toxikus hatása ellen.
7. Érésig nevelt toleráns és érzékeny búzafajta agronómiai jellegeinek értékelésével a gyakorlati felhasználás lehetőségének vizsgálata. A fentiek ismeretében választ keresünk arra is, hogy a búza alkalmas lehet-e Cu-szennyezett talajok fitoremediációjára (szennyezés eltávolítására).

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A réz és a nehézfémek jelentősége

Jelenleg elfogadott irányelvek alapján nehézfémeknek nevezzük azokat a fémes elemeket, melyek sűrűsége 5 g/cm^3 -nél nagyobb, továbbá specifikus fémes tulajdonságokat mutatnak (jellegzetes elektromos vezetőképesség, komplexképző hajlam, ligandspecifitás, stb. - Maywald és Weigel, 1997). Az ipar szinte minden területén nagy mennyiségben felhasználják ezeket az elemeket, egyrésztük ugyanakkor mind a növényi, állati és emberi szervezet számára nélkülözhetetlen tápelem. Néhány nehézfém mint környezetszennyező anyag is az érdeklődés középpontjába került, különösen azok a nem esszenciális elemek, melyek már kis mennyiségben is toxikusak az élő szervezetek számára (Cd, Hg), illetve felhalmozódva a szervezetben krónikus tüneteket idézhetnek elő (Pb). Vízkultúrában és nehézfém-tartalmú szennyvíziszapon nőtt növények vizsgálata alapján több szerző is a Cu-t tartja a növények számára legkárosabb nehézfémnek, megelőzve toxikusság szempontjából még a Cd-ot is (Fernandes és Henriques, 1991; Smilde, 1981; Wong és Bradshaw, 1982; Karataglis, 1987). A nehézfémek által élő szervezetekben kiváltott kóros elváltozásokkal járó szindrómát nehézfémstressznek hívjuk.

A réz az állatok és az ember számára fontos nyomelem, a növények számára esszenciális volta már az 1930-as években bizonyítást nyert. Az élő szervezetben ionként – főleg Cu^{2+} – valamint komplexekben fordul elő, ahol a Cu^+ -ion koordinációs száma 2 vagy 4, a Cu^{2+} ioné 4 vagy 6 lehet. Az embernél a Cu-anyagcsere örökletes zavara súlyos megbetegedéseket okozhat (Daniel és mtsai., 2004: hiány: *Menkes*-betegség; akkumuláció: *Wilson*-kór). Rákos szövetekben is leírták a Cu-felhalmozódását, és vizsgálják a Cu-kelatálás, mint lehetséges terápia szerepét (Daniel és mtsai., 2004). A Cu^{2+} ion a mikroorganizmusok számára erős méreg (baktericid, fungicid hatás), így pl. a réztartalmú vegyszereket évszázadok óta használják növényvédőszerként a szőlő- és komlóültetvényeken.

2.2. A réz és a talaj

2.2.1. Természetes talajok réztartalma

A növények a rézet szinte kizárólag a talajból veszik fel, így a Cu-toxicitást a talajok magas Cu-tartalma idézheti elő. A talajok réztartalma természetes és mesterséges (*antropogén*) forrásokból származhat. Antropogén hatásoktól mentes talajok réztartalmát elsősorban a talajképző kőzetek és ásványok réztartalma szabja meg. A talaj réztartalma

egyéb természetes folyamatok során is változhat, így pl. meteor becsapódása által - becslések szerint 1000 t/nap nagyságrendben érik el a Föld légterét (*Chemistry and the Atmosphere*, 1966) -, vulkáni tevékenység révén, valamint vízerózióval kimosott és szállított anyagok kiülepedésével. A magyarországi természetes talajok réztartalma 3.2-38 mg/kg között változik (Győri, 1984).

Amennyiben a talaj réztartalma a 60-125 mg/kg-t eléri, a búzánál a réz toxikus tünetei már megjelenhetnek (Kabata-Pendias és Pendias, 1984). Görögország területén a természetesen magas Cu-koncentrációjú mezőgazdasági művelés alatt álló talajok réztartalma 800-1200 mg/kg-t is elérheti (Eleftheriou és Karataglis, 1989), de foltokban 3000 mg/kg feletti értékek is előfordulnak (Lanaras és mtsai., 1993). Általánosan elmondható, hogy ahol rézbánya van a közelben, ott a magas réztartalmú alapkőzet miatt várható a közeli szántóföldeken a Cu-tartalom fitotoxikus mértékű előfordulása.

2.2.2. Antropogén hatásnak kitett talajok Cu-tartalma

Mesterséges – *antropogén* - források között az ipar, a mezőgazdaság és a közlekedés által kibocsájtott nehézfém-szennyezés lehet számottevő. Az ipari tevékenység által kibocsájtott Cu-szennyezés a többi nehézfém-mel összevetve is kimagasló: a talajt ért összes emissziós fémterhelés már a 80-as években elérte a Cu esetében a 954 ezer t/év mennyiséget, mely a Pb esetében 796 ezer, a Cr esetében 896 ezer, míg a Hg esetében 8.3 ezer t/év mennyiséget jelentett (Nriagu, 1988). A Cd esetében az éves emisszó mintegy 30 ezer t/év (Di Toppi és mtsai., 1999).

Ipari nehézfém-szennyezés elsősorban fémbányák, fémfeldolgozó, előállító és galvanizáló üzemek, valamint hőerőművek környezetében fordul elő. Ipari szennyezés miatti Cu-fitotoxicitást több országban is dokumentáltak (Tchuldjian, 1978; Hazlett és mtsai., 1983; Turner és mtsai., 1993).

A közlekedés okozta Cu-szennyezés – mely elsősorban a fékbetétek valamint egyéb súrlódó alkatrészek kopásából származik – bár kimutatható az út néhány méteres környezetében (Kádár, 1993), azonban elhanyagolhatónak tekinthető az ipari ill. mezőgazdasági szennyezéshez képest.

Mezőgazdasági fémszennyezés a műtrágyák, szerves-trágyák, meszezőanyagok és növényvédőszer-alkotórészeként, valamint az öntözővíz szennyezéseként a talajba kijuttatott szennyezés lehet (Csathó, 1994). Réztartalmú növényvédőszer-alkotórészek tartós használata is réztoxicitást válthat ki: szőlő- és komlóültvényeken az alkalmazott réztartalmú szerek következtében a talajok réztartalma jóval magasabb lehet, mint 100 mg/kg, komlóültvények

talajában 500 mg/kg feletti réztartalmat is kimutattak (Bachthaler és mtsai., 1974). Közép-Amerikában az 50-es években huzamosabb ideig nagy rézadagokat használtak növényvédőszerként a banánültvényeken (Bornemissza, 1985), ahol a kevésbé mozgékony réz a talaj felső rétegében 200-1000 mg/kg mennyiségben halmozódott fel. Ezeknek a területeknek a természetes réztartalma 5-10 mg/kg (Mannix és Rodriguez, 1967). Ez a környezetszennyező agrotechnikai gyakorlat Costa Rica és Guatemala banántermő vidékén sok ezer hektár – egyébként jó minőségű – földet tett tönkre. Réztoxicitást figyeltek meg Floridában (Reuther és Smith, 1954) és Franciaországban is (Delas, 1963), ahol nagy mennyiségű réztartalmú kemikáliát alkalmaztak citrom, banán és szőlő ültetvényeken. Az ilyen területeken az állókultúrák szántóföldi növényekkel történő felváltása súlyos problémákat eredményezhet, mivel gyökérzetük sajátosságai nem teszi lehetővé a toxikus feltalaj elkerülését.

2.2.3. A réz sorsa a talajban

A talajképző kőzet kémiai mállásával kerülnek a mikroelemek a növények gyökerei számára felvehető formába, ami egyrészt a talajoldatban oldott, másrészt a talajkolloidok felületén adszorbeált formákat jelenti. Egy tipikus talajoldatban 10-20 különböző kation is előfordulhat, melyek különböző anorganikus és szerves ligandumokkal is reakcióba léphetnek 3-400 féle oldható, és kb. 80 különféle szilárd komplexet képezve (Sposito és Bingham, 1981).

A talajban a réz ionként (főleg Cu^{2+}), különböző Cu (I, II)-komplexekben, valamint kelatálva is előfordulhat. A felvehető formák mennyiségét részben a talaj tulajdonságai – *fizikai talajféleség, ásványi összetétel, pH, szervesanyag tartalom, mésztartalom* –, részben pedig a mikroelem fizikai és kémiai sajátosságai – pl. *a komplexképző valamint adszorptív hajlama* – szabják meg (Stefanovics, 1995). A fémkomplexek stabilitása a fémion méretével és töltésével van összefüggésben, a nehézfémionok esetében a sorrend a következő: $\text{Mn}^{2+} < \text{Fe}^{2+} < \text{Co}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Ni}^{2+} < \text{Cu}^{2+}$ (Irving-Williams-sorrend). Az agyagásványokon való kötődés erőssége a kation adszorpciós energiájától függ a következő sorrend szerint: $\text{Ca} < \text{Zn} < \text{Co} < \text{Ni} < \text{Pb} < \text{Cu}$. A talajkolloidokhoz a réz kötődése pH=7-8 között a legerősebb, más kation ekkor nem képes kiszorítani. A Cu-erős komplexképző és adszorptív hajlama miatt a növények számára hozzáférhető, oldott Cu-mennyiség a talajoldatban alacsony, ami egyrészt csökkenti a Cu-toxicitás kialakulásának a lehetőségét, de ugyanakkor meggátolja a Cu-kimosódását a felszíni talajrétegekből. Emiatt a felső, mezőgazdaságilag fontos talajrétegben már a fizikai-kémiai tényezők kismértékű változása is növelheti a talajoldat

nehézfémkoncentrációját. A réz kelátkomplekként mozgékony formában is jelen lehet a talajoldatban, mely a növények számára szintén felvehető. Kelátorok alkalmazása így szintén fémtoxicitáshoz vezethet.

2.2.4. A rézszennyezett talajok hasznosítása és megtisztítása

A rézszennyezett talajok hasznosítása vagy a talajok réztartalmának csökkentésével, vagy réztoleráns fajták előállításával valósítható meg. A talaj megtisztítása a szennyezőanyagoktól költséges folyamat, fizikai-, kémiai- és biológiai eljárásokat foglalhat magában. A szennyezett talajok és vizek remediációját növények segítségével is meg lehet valósítani, mivel a növények bizonyos elemeket, vegyületeket nagy mennyiségben képesek akkumulálni, ill. toxikus, környezetkárosító elemeket, vegyületeket metabolizálhatnak kevésbé káros formákká alakítva azokat (Salt és mtsai., 1998). A nehézfémek magasabbrendű növényekben történő biokoncentrálni folyamatának megjelölésére Raskin vezette be a „*phytoremediation*” (fitoremediáció) fogalmát (Raskin és mtsai., 1994), de a növények segítségével történő talajtisztítás lehetőségét a Cd esetben már 25 éve felvetették (Utsunomiya, 1980). A nehézfémek talajból történő eltávolítását 'fitoextrakció'-nak nevezik, mely a fitoremediációs technikák egy speciális esete (Salt és mtsai., 1998).

A fitoextrakcióra alkalmas növény ideotípusa a következő (Marchiol és mtsai., 2004):

1. az adott nehézfémet akkumulálni képes, lehetőleg a földfeletti részében
2. az adott nehézfémrel szemben toleráns
3. gyorsan nő, és nagy a biomassza produkciója
4. könnyen termeszthető és gyűjthető

A legfontosabb kritérium, hogy a nagy biomassza produkció és a magas fémkoncentráció együtt legyen meg a növényben (Chaney és mtsai., 1998), de napjainkig még nem ismert olyan vad vagy termesztett faj, mely mind két tulajdonságot hordozná (Li és mtsai., 2003). A fitoextrakciós kutatások jelentős hányada a *Cruciferae* (keresztesvirágúak) család *Brassica* nemzetségére fókuszál, mivel több természetes fémakkumuláló faj tartozik ebbe a rokonsági körbe (pl. *Brassica napus* (repce), *B. juncea*) (Kumar és mtsai., 1995; Ebbs és Kochian, 1997), a közelmúltban már transzgénikus repce növények fitoremediációs képességét is vizsgálták (Nie és mtsai., 2002).

A búza fitoremediációra alkalmas növényektől elvárt kritériumoknak a termesztési feltételek és biomassza produkció szempontjából kiválóan megfelel, így toleráns és

akkumuláló genotípusok azonosítása esetén ideális növény lenne a szennyezett talajok hasznosítására. A génbankokban tárolt több 1000 búza genotípus, illetve a számos közeli rokon vad- és kultúrfaj lehetőséget ad ilyen genotípusok azonosítására, így a búza fitoremediációs célú felhasználására reális esély van.

2.3. A réz és a növényi tápelemek jelentősége a növények életében

2.3.1. Makro- és mikroelemek

Növényi szervezetekből gyakran 40-50 kémiai elemet is ki lehet mutatni, de ezek közül jelenleg csak 17 elemről elfogadott (C, H, O, N, K, Ca, Mg, P, S, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, B, Cl), hogy minden magasabbrendű növény optimális fejlődéséhez nélkülözhetetlen (Welch, 1995; Taiz és Zeiger, 2002). Bizonyos növényfajok számára egyéb elemek is esszenciálisak lehetnek: a Co a N-kötő baktériumokkal szimbiózisban élő hüvelyesek számára (Asher, 1991); a Na a C₄-es és CAM (*Crassulaceae Acid Metabolism*) növények (Johnstone és mtsai., 1988); míg a Cd a tengeri kovamoszatok számára (Lane és Morel, 2000). A Si-t – bár kedvezően befolyásolja a növények életfolyamatait -, általánosan még nem fogadják el esszenciálisnak (Asher, 1991). A 17 esszenciális elem közül 9 ún. makrotápelem (C, H, O, N, K, Ca, Mg, P, S), melyek a növényi szövetekben 0.1 %-nál (1000 mg/kg) nagyobb mennyiségben fordulnak elő. A főként a vízből és szén-dioxidból származó C, H és O-nel ellentétben a többi elemet a talajoldatból veszik fel a növények.

A mikroelemek mennyisége a növényi részekben általában kevesebb, mint 0.01 % (100 mg/kg). Az esszenciális mikrotápelemek (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn továbbá a félfémek közé tartozó B és a nemfémes Cl) jelentősége abban áll, hogy már egészen csekély mennyiségben - enzimek alkotórészeként - döntő hatást fejtenek ki a növények fiziológiai folyamataira, ugyanakkor nagyobb mennyiségben toxikus stressztényezőként szerepelhetnek. A fentiek miatt a növények életében fémion-homeosztázis kiemelkedő szerepet tölt be. A homeosztázis magában foglalja a felvétel, szállítás, kelatálás, kompartmentalizáció, inaktiválás, és elosztás szabályozását is.

2.3.2. A réz szerepe a növények életében

A réz az egyik legfontosabb növényi mikrotápelem. A felvett réz - Cu²⁺ vagy kelát – csak kis része vízdékony, mintegy 70 %-a kloroplaszt fehérjéihez kötött. Részt vesz a fotoszintézisben (*plastocianin*) és a légzésben (*citokróm-c-oxidáz*, *alternatív oxidáz*, *aszorbinsav-oxidáz*, *polifenoláz*) szerepet játszó enzimek felépítésében. A *Cu-Zn szuperoxid-dizmutáz* (CuZn-SOD) enzim alkotórészeként az oxidatív stressz elleni védekezésben is

központi szerepet tölt be. A réz szerepet játszik még a lignifikációban, a betegségek elleni rezisztencia kialakításában, valamint befolyásolja a pollenek életképességét is (Bussler, 1981; Walker és Webb, 1981; Mortvedt és mtsai., 1991). Reutilizálható tápelem.

2.3.3. A réz és az esszenciális tápelemek koncentrációja a búzában

A növények – így a búza – ásványi összetételét számos külső és belső tényező befolyásolja (Kleese és mtsai., 1968; Prohászka, 1978). Függ a genotípustól, talajtípustól, trágyázástól, vízellátottságtól, időjárási körülményektől, stb., és szövetenként ill. szervenként is eltérő lehet (El Gindy és mtsai., 1957; Ghanbari és Mameesh, 1971). A tápelemek koncentrációja a búzában a tenyészidő folyamán állandóan, vagy kisebb ingadozásokkal csökken (Lásztity, 1988). Az egyes növényi részek között az elemek megoszlása az életkorral változik, részarányuk az egyes növényi szervek javára eltolódhat (Daigger és mtsai., 1976; Lásztity, 1988).

A réztartalom az 'MV-8' búzafajtánál a föld feletti részekben a tenyészidő folyamán közel állandó (ca. 10 mg/kg, Lásztity, 1988), csak az érés folyamán csökken (5-6 mg/kg, Lásztity, 1988). Éréskor a szemtermés Cu-tartalma az 'MV-8' fajtánál 5.3 mg/kg, míg a szalmáé 2.5 mg/kg volt (Lásztity, 1988). Az őszi búza Cu-tartalmára a különböző mértékű makroelem (NPK)-műtrágyadózisok sem voltak jelentős hatással, így a búza rézfelvétele elsősorban a fajta adottságaitól, a talaj fizikai-kémiai tulajdonságaitól és Cu-tartalmától függ (Kádár és Lásztity, 1979).

2.4. A nehézfémek felvétele és szállítása a növényekben

2.4.1. A réz felvétele a talajból

Abszorpciónak nevezzük azt a folyamatot, melynek során a talaj ásványi elemei a talajból az apoplazmatikus térbe, majd a plazmamembránon keresztül a gyökérsejtek belsejébe vevődnek fel. A talajoldatban a legtöbb mikrotápelem mennyisége 10^{-10} és 10^{-6} M között van (Welch, 1995), a réz esetében ez az érték 10^{-6} - 10^{-9} M (McBride, 1981).

A talajoldat oldott ionjai az apoplazmatikus térbe egyszerű diffúzióval bejuthatnak. Itt a sejtfal polimerek, pl. a poligalakturonsav negatív töltésű csoportjaihoz a kationok reverzibilisen kötődhetnek, így a sejtfal ioncserélőként raktározhat nagy mennyiségű kationt. Az egyes mérések szerint a sejtfal (apoplaszt tér) a növényi szövetek térfogatának 5-20 %-át teszi ki. Az ionok felvételében az első gátat a sejtmembrán jelenti, melyen az átjutást transzport- és csatornarendszerek segíthetik. Míg az apoplazmatikus térbe a bejutás passzív folyamat, addig a membránon való áthaladás a legtöbb esetben energiát igényel.

A mikroelemek felvételénél a hajtóerő a gyökérsejt plazmamembránján keresztül mindegyik ionfajtára kialakuló elektrokémiai potenciálgrádiens. Mivel a gyökérsejteknek a membránpotenciál a -120 -180 mV-os tartományba esik, ez fontos mozgatója a kationok felvételének, azonban az anionok abszorpcióját megnehezíti. Az anionok felvétele proton kotranszporttal valósul meg, míg a semleges molekulák felvételének hajtóereje a diffúziós grádiens. A mikroelemek közül a Mo és Cl anionként van jelen a talajoldatban, így felvételük aktív transzporttal történik. A B a legtöbb talajban anionként és semleges molekulaként is előfordulhat, mely számára a membrán viszonylag permeábilis (Stangoulis és mtsai., 2001). A többi mikrotápelem (Fe, Zn, Cu, Mn, Ni) abszorpciója főként kétértékű kation formájában történik, de a nehézfémionok kelátkomplekként is felvevődhetnek.

A nehézfémionok közül legrészletesebben a vas felvételét vizsgálták, de az ott megfigyelt szabályszerűségek érvényesek a többi kétértékű nehézfémion felvételére is. Az eddig tanulmányozott növények vass felvételi rendszerük alapján 2 csoportba sorolhatók (Römheld és Marschner, 1986), így különbséget teszünk a kétszikűek és a nem fűféle egyszikűek vass felvételi stratégiája (I.-es stratégia), valamint a fűféle egyszikűek (*Gramineae*) vass felvételi stratégiája között (II.-es stratégia). A II.-es vass felvételi stratégiát alkalmazó pázsitfűfélék gyökérzete alacsony molekulasúlyú fémkelátképző aminosavszármazékokat, - fitosziderofórokat (*phytosiderophore*, *PS*) - szintetizál és választ ki a talajba, melyek képesek amino- és karboxil-csoportjaikkal a Fe^{3+} vagy Fe^{2+} ionokat – ill. a Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} valamint a Co^{2+} ionokat is - specifikusan megkötni. A gyökerek azután ezt a *ferri-fitosziderofór* komplexet nagy specifitású transzport proteinjeik segítségével már fel tudják venni. Feltételezett Fe(III)-fitosziderofór transzportert kukoricában azonosítottak vas(III)-fitosziderofór felvételében mutáns vonalak segítségével, melynek homológjait már *Arabidopsis*-ban is azonosították (Curie és mtsai., 2001). A citoplazmában a felvett fém disszociál a ligandról (kelátorról), majd vagy tárolódik (*phyto-ferritin*) vagy a felhasználás helyére szállítódik Fe(II)-specifikus fémkötő ligandumok – pl. nikociánamin – segítségével. A búza fitosziderofórja a 2'-deoximugineinsav (DMA). A mugineinsavak metioninból szintetizálódnak nikociánaminon, mint köztiterméken keresztül (Kanazawa és mtsai., 1993; Ohata és mtsai., 1993). A fitosziderofór szintézis indukcióját a vason kívül más kétértékű fémionok (Mn, Cu, Zn) hiánya is kiváltja. A mugineinsav szintézisben az árpa 4H (Mori és mtsai., 1989), valamint a rozs 5R (Mori és mtsai., 1990) kromoszómája játszik szerepet.

2.4.2. A réz szállítása a növényekben

A gyökér által felvett ásványi elemek elsősorban a transpirációs áram és gyökérnyomás segítségével a xilém elemekben szállítódnak a zöld részekhez. A transpirációs áram szerepét alátámasztja, hogy az abszcizinsav (ABA) indukált sztómazáródás drasztikusan csökkentette *Brassica juncea*-ban a hajtás Cd akkumulációt (Salt és mtsai., 1995).

A gyökér által abszorbeált ionok központi henger legkülső sejtsoráig az apoplasztikus úton, egyszerű diffúzióval is eljuthatnak, a sztélébe történő belépéshez – az endodermisz sejtek Caspary-csíkjai miatt – azonban mindenképpen be kell jutniuk a citoplazmába. Ezután a xilém parenchimáig szimplazmás úton eljutott anyagoknak ki kell lépnie az apoplaszt térbe, majd be kell lépnie a vízz szállító elemekbe. Ionok esetében a tracheákba és tracheidákba történő belépés egyszerű diffúzióval is megtörténhet, de a passzív áthaladás mellett az aktív transzportnak is szerepe van a xilém elemek feltöltésében, amit alátámaszt, hogy a xilém parenchima sejtek membránja H^+ pumpákat, víz csatornákat és különböző influx és efflux ioncsatornákat tartalmaz (Maathuis és mtsai., 1997). Árpa xilém parenchima sejtekben K^+ specifikus és nem-szelektív csatornákat is találtak, melyeket a membrán potenciál és az intracelluláris Ca-koncentráció is regulált (De Boer és Wegner, 1997). Mindezek arra utalnak, hogy az ionok kiáramlása a parenchima sejtekből a xilém szállítóelemekig szigorú kontroll alatt áll.

Fontos kérdés még, hogy az ionok – különösen a szabad formában reaktív nehézfémionok – milyen formában szállítódnak. A jelenlegi elfogadott álláspont szerint a nehézfémionok fémkötő ligandumokhoz kötődnek, és a fémion-ligandum komplex szállítódik a xilémbe – illetve a floémbe is.

A xilémbe a növényfajok nagy részénél a pH 4.5 – 6.5 között változik (Marschner, 1995). A xilémnedv vizsgálatok alapján általánosan elfogadott, hogy a vas Fe-citrát, a réz Cu-aminosav komplexként szállítódik (szójában ezek az aminosavak az aszparagin és hisztidin; paradicsomban a glutamin és aszparagin), míg a Zn, Mn, Ca és Mg főleg citromsavval és almasavval képez komplexet (White és mtsai., 1981a, b, c). A szállítási formát az adott ion oxidációs száma is befolyásolhatja: az Fe(III)-citromsav komplex 16 nagyságrenddel stabilabb, mint az Fe(II)-citromsav komplex (Tiffin, 1972), és az Fe(III) a mugineinsavval is jelentősen stabilabb komplexet képez (Sugiura és Nomoto, 1984).

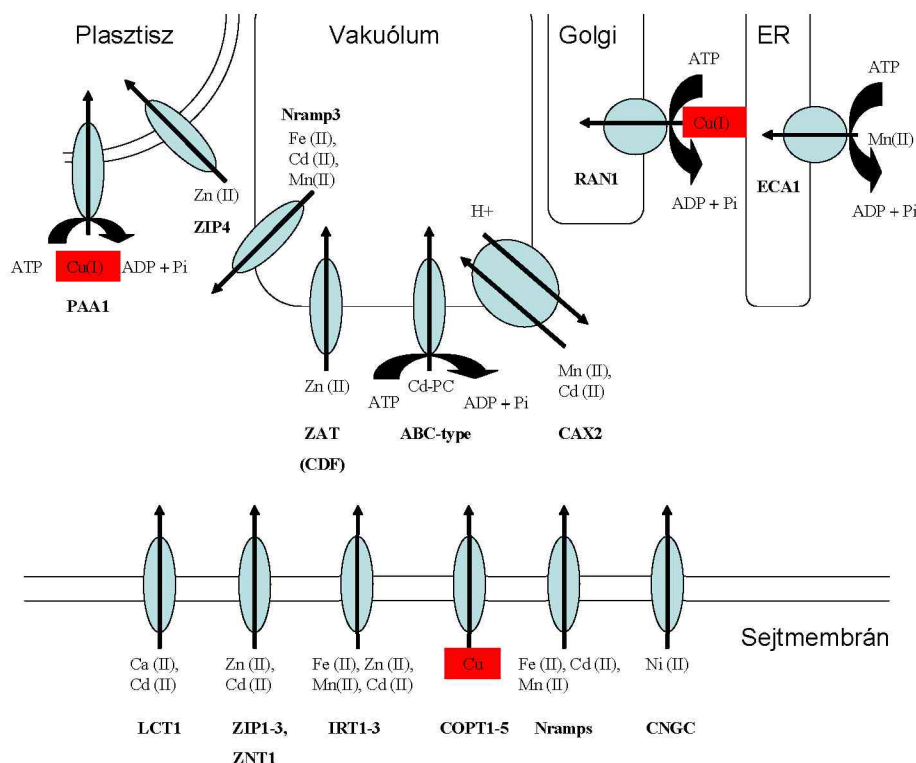
A floémbe a xilémmel szemben pozitív hidrosztatikus nyomás van, valamint az oldott anyagok koncentrációja is magasabb, mint a xilémbe (főleg a szacharóz és a K^+ miatt). A floémbe komplexként történő szállítást az alkalikus pH viszonyok (pH 7.5 – 8.5) és a magas foszfát tartalom is alátámasztják, mivel magas pH-n a szabad nehézfémionok

kicsapódnának. Mori és mtsai. (1991) kimutatta a rizs floémnedvben is a muginensavakat, és feltételezte, hogy az Fe teljes mennyisége Fe-mugineinsav komplexként van jelen. Paradicsomban Scholz (1989) és Stephan és Scholz (1993) igazolták nikociánaminnak a Fe floémtranszportjában betöltött szerepét. A Cu főleg szerves savakhoz kötődve szállítható a floémában (Welch, 1986, Loneragan, 1981): ezek lehetnek fitokelatinok, glutation, vagy cisztein.

A szemtermésbe az ásványi elemek főleg a floémen keresztül szállítódnak (Pearson és Rengel, 1995). A szemtermés telítődésekor (*grain-filling*, *seed loading*) amennyiben bizonyos elemekből hiány áll fenn, a levelekből remobilizálódhatnak egyes ásványi elemek (Pearson és Rengel, 1994).

2.4.3. Nehézfém-transzporter fehérjék

A fémek felvételében és szállításában a transzporter fehérjék központi szerepet töltenek be, mivel az ionok membránon való szelektív ill. aktív átjutását főként ezek a fehérjék szabályozzák. Ezek a sejtmembránhoz asszociált fehérjék ún. csatorna fehérjék (*channel*), hordozók (*carrier*) és ionpumpák (*pump*) lehetnek (Taiz és Zeiger, 2002). Ezek a transzport fehérjék nem csak a sejtmembránban, de a sejtorganellumok membránjában is megtalálhatók (vakuólum, Golgi-apparátus, kloroplaszt). A membrántranszport fehérjék kiemelkedő szerepet játszanak az ionok szállításában és sejten belüli homeosztázisában: az egyes transzport fehérjéket kódoló gének sejtenként, szövetenként eltérő expressziója döntő mértékben járul hozzá a különböző funkciójú sejtek kialakításához, és a növényi sejtek nagy diverzitásához. Szerepüket jelzi, hogy *Arabidopsis thaliana*-ban 849 gén – az összes gén 4.8 %-a – kódol membrántranszport fehérjéket (Taiz és Zeiger, 2002). Az utóbbi években ugyan több, a nehézfémek transzportjában szerepet játszó transzportfehérjét ill. génjét azonosították (1. ábra), de búzánál még nem sikerült nehézfémtranszportereket azonosítani.



1. ábra. Azonosított nehézfém-transzporterek. Hall és Williams (2003) cikke alapján módosítva. A Cu-transzportereket piros színnel jelöltük.

2.4.4. A réz szállítása a sejtben belül

A sejtbe történő felvétel után a nehézfémek a felhasználás helyére szállítódnak, míg a fölösleges mennyiség raktározódhat. A szállítást speciális szállítófehérjék, ún. metalochaperonok végzik, melyek egyrészt megakadályozzák, hogy a fémionok a citoplazmában nemkívánatos kötéseket hozzanak létre, másrészt képesek felismerni a célfehérjét, és gyorsan átadni annak a fémiont (Arnesano és mtsai., 2002). Élesztőben azonosítottak egy Cu-metalochaperont, mely nélkülözhetetlen a Cu-tartalmú SOD enzim aktiválásához (Culotta és mtsai., 1997). A chaperon közvetlenül a Cu beépítésével aktiválja az enzimet.

A Cu-ion tehát egy nagy affinitású transzporter segítségével (pl. COPT1, Cu²⁺ influx fehérje) felvevődik a citoszolba, ahol kelatálódik egy Cu-chaperonnal. A Cu-chaperon vagy specifikus Cu-pumpákhoz (vakuólum-membrán, Golgi-membrán, stb.) vagy egy citoszolos Cu-tartalmú fehérjéhez szállítja. Amennyiben Cu-pumpákhoz szállítódik, a pumpák segítségével bekerül a megfelelő organelumba, ahol kelatálás után ismét a felhasználás helyére – a megfelelő Cu-tartalmú fehérjéhez – szállítódik, illetve raktározódhat komplexként is a későbbi felhasználódásig.

2.5. Nehézfémstressz – a réz toxikus hatása

2.5.1. A réztoxicitás mechanizmusa és a többlet réz hatása a búzanövényre

A nehézfémionok vegyértékváltó képességük következtében képesek reaktív oxigénszármazékok keletkezését indukálni (Halliwell és Gutteridge, 1986). A Cu^{2+} magas koncentrációban a Fenton-reakcióval (főleg a kloroplasztban) katalizálhatja hidroxil gyökök kialakulását O_2 -ből és H_2O_2 -ből, mely közvetlenül károsíthatja a fehérjéket (Fernandes és Henriques, 1991). A nehézfémek képesek kötődni a fehérjék oxigén, nitrogén és kén atomjaihoz (Nieboer és Richardson, 1980), a fehérjék szulfid csoportjához (Uribe és Stark, 1982), és inaktiválni ezáltal a cisztein tartalmú enzimeket. A többlet Cu^{2+} a metaloproteinekben helyettesíthet más fémeket, mely a fémtartalmú enzimek közvetlen inaktiválásához vezethet (Van Assche és Clijsters, 1986). A Cd pl. bizonyítottan helyettesítheti a Ca-t a calmodulinban, mely a calmodulin függő foszfodiészteráz - így a jelátviteli utak - zavarához vezet (Rivetta és mtsai., 1997).

Ha a gyökér toleráló képessége túlterheltté válik, a Cu^{2+} transzlokálódik a levelekhez, ami a fotoszintetikus apparátus károsodásához vezethet. Az egyik legelső közvetlen hatás a tilakoid membránok oxidatív károsodása. A réznek a PSII-re gyakorolt közvetlen hatása, hogy módosul a Q_A és Q_B közötti elektrontranszfer (Ciscato és mtsai., 1997). Csökken a klorofill-*a/b* arány, ami valószínűleg szintén a réz közvetlen hatásának eredménye az LHCII-re. Közvetett hatása a réznek, hogy a fotoszintetikus produktumok iránti igény csökkenése következtében lelassul az elektrontranszport.

Réztöbbletet tartalmazó talajokon termesztett búzanövényeken növekedésgátlást, klorózist, a kloroplasztok ultrastrukturális változását, (Eleftheriou és Karataglis, 1989) és a PSII hatékonyságának a csökkenését (Lanaras és mtsai., 1993) figyelték meg. Súlyos esetben jelentős termésveszteség lép fel, és a fertilitás is csökken (Moustakas és mtsai., 1997). Az eddigieket összegezve a következők állapíthatók meg a réztoxicitás hatásmechanizmusáról:

1. A szabad rézionok először a gyökérzet plazmamembránját károsítják: a réz oxidálja, és keresztkötést alakít ki a membránfehérjék -SH csoportjai között, megbontva így a membránintegritást (De Vos és Schat, 1991).
2. A membránszerkezet megváltozása a membrán-asszociált fehérjék szerkezetének/működésének megváltozását okozza: gátolja a plazmalemmában lokalizált ATP-áz (Serrano, 1990), mely így gátolja a proton effluxot, valamint a K^+ -felvétel zavarát okozza (Meharg, 1993). A K^+ -felvétel zavara a

- megváltozott membránpermeabilitással együtt a vízháztartás zavarát okozza, ami a megnyúlásos növekedés gátlásához vezet. A gyökérnövekedés gátlódik.
3. A réztoxicitás a legtöbb esetben oxidatív stressz formájában is jelentkezik (Stohs és Bagchi, 1995), mely a biomembránt felépítő zsírsavak peroxidációjának mértékét fokozza, további zavarokat okozva a membránköött folyamatokban. Mivel a létrejött reaktív oxigénszármazékok minden biomolekulát képesek károsítani, így a többlet réz súlyos fiziológiai elváltozásokat okoz a sejtben.
 4. Mindezen hatások következtében a membrán szelektív permeabilitása csökken, majd megszűnik, a Cu^{2+} influx növekszik (Strange és Macnair, 1991). Más elemek felvételét megzavarja a réz.
 5. A toxikus hatás a gyökérből áttevődik a hajtásba, károsodik a fotoszintetikus apparátus (Ciscato és mtsai., 1997), melynek elsődleges tünete a fluoreszcencia szint emelkedése, ill. a klorózis megjelenése.
 6. Kis késéssel lezajlanak a hajtásban is a gyökérben már korábban elkezdődött folyamatok: a hajtás megnyúlás is gátlódik, Cu^{2+} koncentrációtól függő mértékben anyagcserezavarok lépnek fel.
 7. Az anyagcsere folyamatok egyensúlya felborul, mely szélsőséges esetben a növény pusztulásához vezet.

2.5.2. Alapvető védekezési stratégiák a réz toxikus hatása ellen

A nehézfémek toxikus hatása elleni védekezés szempontjából az általános stressz-elmélet (Levitt, 1980) analógiájára két alapvető stratégiát különböztethetünk meg. A védekezési mechanizmusok egyik csoportját az *elkerülési* (kizárási) stratégia, a másik csoportját a *tolerancia* stratégia jellemzi. Az elkerülési stratégiát a nehézfém felvétel korlátozásával - így azok szövetekből történő kizárásával - valósítják meg a növények (Taylor, 1987; Cumming, és Taylor, 1990). A tolerancia stratégiát alkalmazók a nehézfémek aminosavak, fehérjék, peptidek általi lekötésével képesek a nehézfémeket akkumulálni, tárolni és immobilizálni (Verkleij és Schat, 1990).

Az elkerülési-stratégiához a következő folyamatok tartoznak:

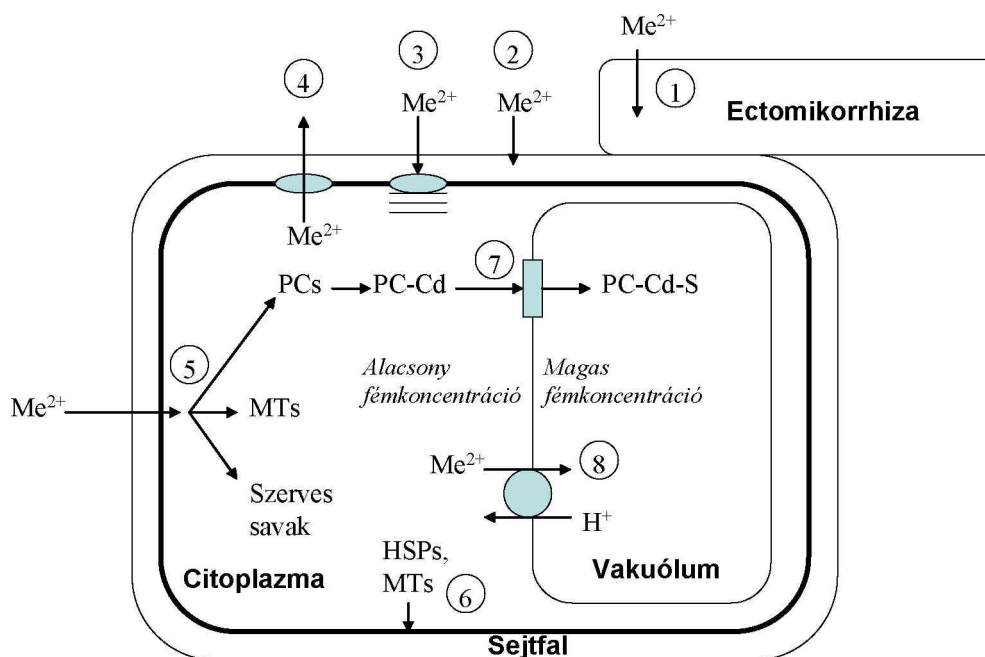
1. A fémek meg- ill. lekötése a sejtfalban (Turner, 1970; Turner és Marshall, 1971; Turner és Marshall, 1972; Malone és mtsai., 1974; Lane és mtsai., 1978).

2. A megváltozott membránstruktúráknak köszönhető megváltozott membránpermeabilitás, és redox-barrierек kialakítása a plazmamembránban (Green és mtsai., 1980; Xu és Patterson, 1985; Brown és DuPont, 1989; Cumming és Tomsett, 1992).
3. Fémkötő vegyületek megnövelt szekréciója, mely a nehézfémkomplexek extracelluláris csapadékképződéséhez vezet (Coombes és mtsai., 1977; Taylor és Foy, 1985; Clarke és mtsai., 1987).
4. Fémion-efflux pumpák aktiválása, fokozott működése (Silver és Misra, 1988; Nies és Silver, 1989; Silver, 1996).
5. Gomba-növény szimbiózisokban a mikorrhizáció szerepe (Schützendübel és Polle, 2002).

A tolerancia-stratégiához tartozó folyamatok a következők:

1. Intracellulárisan lokalizált vegyületek szintézise, melyek képesek megkötni a nehézfémeket (pl. metallothioneinek, fitokelatinok és egyéb szerves vegyületek (Zenk, 1996).
2. Szubcelluláris fémkompartmentalizációt érintő változások (Chardonnens és mtsai., 1999).
3. A sejt metabolizmus megváltoztatása, pl. alternatív anyagcsere utak aktiválása révén, oxidatív stressz elleni védekezés (Schützendübel és Polle, 2002).

A sejtszintű védekezési lehetőségeket a 2. ábra mutatja meg.



2. ábra. Sejtszintű védekezési lehetőségek a nehézfémek károsító hatása ellen. 1: A fémionok extracelluláris leköttése mikorrhizák segítségével; 2: Nehézfémek leköttése a sejtfalban, illetve a rizoszférában gyökér exudátumok segítségével; 3: Csökkentett influx a sejtmembránon keresztül; 4: Aktív efflux az extracelluláris térbe; 5: Kelatálás a citoszolban szerves ligandumok segítségével; 6: A plazmamembrán stresszokozta károsodásainak kijavítása és védelme; 7: A PC-Cd komplex aktív transzportja a vakuólumba; 8: Fémionok akkumulálása a vakuólumban (Hall, 2002 alapján módosítva). Me^{2+} : kétértékű fémion; MTs: metallothioneinek; PCs: fitokelatinok, HSPs: hőszok proteinek.

A réz oxidatív stressz kialakítására képes, így káros hatásának tolerálásában az antioxidatív védekezőrendszernek is fontos szerepe lehet. A reaktív oxigénszármazékokat semlegesítő rendszernek enzimikus (kataláz, peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz) és nem enzimikus (antioxidánsok: aszkorbinsav (C-vitamin), β -karotin (A-vitamin), α -tokoferol (E-vitamin), glutation (GSH/GSSG)) komponensei vannak (Noctor és Foyer, 1998; Asada, 1999). A stresszadaptációt a poliaminok (*putreszcin*, *spermidin*, *spermin*) is befolyásolhatják, mivel fontos szerepet játszanak a sejtek növekedési és fejlődési folyamataiban, valamint résztvesznek a membránok és nukleinsavak integritásának megőrzésében stresszkörülmények között (Galston és Kaur-Sawhney, 1995). Akkumulációjuk figyelhető meg só, szárazság, hő, valamint oxidatív stressz esetén (Flores és Galston, 1982; Erdei és mtsai., 1990; Galiba és

mtsai., 1993).

Durum búzával végzett kísérletek megmutatták, hogy a Ni- és szárazságstresszre érzékenyebb *Adamello* fajta a Cu^{2+} és NaCl stresszre is érzékenyebb, mint a toleránsabb *Ofanto* fajta (Ciscato és mtsai., 1997; Meneguzzo és mtsai., 2000).

A nehézfémek által kiváltott káros hatások kivédésében a hősokk fehérjék (*Heat Shock Proteins, HSPs*) is szerepet játszhatnak: fokozott expressziójukat (HSP17) megfigyelték magas Cu-tartalmú talajon nevelkedett *Armeria maritima* gyökerében (Neumann és mtsai., 1995). Kis hősokk fehérjék (pl. HSP17) expresszióját különböző nehézfémekkel kezelt *Silene vulgaris* és *Lycopersicon peruvianum* sejtkultúrákban is megfigyelték (Wollgiehn és Neumann, 1999), bár magas nehézfém-tartalmú talajon nőtt növényekben nem, vagy csak nagyon kis mennyiségben expresszázódtak. Mindez arra utal, hogy a *Silene vulgaris* öröklődő fémtoleranciájában a HSP-k nem, vagy csak kis szerepet játszanak. Antitestekkel végzett vizsgálatokkal a Cd-stressz indukálta HSP-eket a nukleuszban és a sejtplazmában lokalizálták (Neumann és mtsai., 1994). Ez azt jelenti, hogy a HSP-k a javító (repair) mechanizmusok fokozásában, és a sejtmembrán integritásának megőrzésében játszhatnak szerepet (2. ábra).

2.5.3. Nehézfém-toleranciában specifikus szerepet játszó fehérjék és szerves savak

2.5.3.1. Metallotioneinek (MTs)

A magasabbrendű növényekben a kis molekulatömegű, magas cisztein tartalmú fémkötő-fehérjék két nagy csoportja, a metallotioneinek (MTs) és a fitokelatinok (PCs) fordulnak elő. A MT-k az élővilágban a prokariótáktól az emberig általánosan előforduló fehérjék (Kägi és Kojima, 1987), központi szerepük van az egyedfejlődés során az esszenciális Zn- és Cu-ionok homeosztázisának szabályozásában, és a nem esszenciális nehézfémek (Cd, Hg) detoxifikálásában. Az elsőként azonosított MT-k két csoportba sorolhatók:

MT I. osztály: azok a polipeptidek tartoznak ide, melyekben a cisztein oldalláncok helyzete hasonló a ló vesekéregből elsőként izolált MT-khez. Elsősorban a Zn^{2+} ionok homeosztázisában játszanak szerepet, de igazolták szerepüket a Cd^{2+} toleranciában is (Masters és mtsai., 1994).

MT II. osztály: élesztő típusú MT-k, melyekben a cisztein oldalláncok helyzete más, mint a ló vesekéregből izolált MT-ké. Ezek főleg Cu-ionokat kötik meg. A Cu-indukálható MT CUP1 (*Saccharomyces cerevisiae*) részt vesz a Cu-detoxifikációban (Hamer és mtsai., 1985). A *cup1* gén szétagolása Cu-hiperérzékenységhez, míg a *cup1* túlexpresszáltatása fokozott Cu-toleranciához vezet. Az MT I.-ekhez hasonlóan a Cd

megkötését itt is igazolták. MT-Cd komplex kialakulását leírták *Schizosaccharomyces pombe* sejtekben, melyekben az *S. cerevisiae* MT-t expresszáltatták (Yu és mtsai., 1994).

Az elsőként izolált metallotioneinként leírt növényi fehérje az MT II-szerű búza E_c -fehérje (E_cMT gén: early cysteine-labelled) volt (Hofman és mtsai., 1984; Lane és mtsai., 1987), melynek expresszióját embriogén mikrospórában, pollen embrioidokban és fejlődő zigotikus embriókban lehet csak megfigyelni (Reynolds és Crawford, 1996). Számos növényben izoláltak már MT géneket (Prasad, 1999; Rauser, 1999), és az I. és II. osztályú MT-ktől eltérő MT3 és MT4 típusokat is leírtak (Goldsbrough, 2000).

2.5.3.2. Fitokelatinok (PCs)

A peptidjellegű fitokelatinokat (PC-k) a *Schizosaccharomyces pombe* élesztőgombából izolálták először, és az I. és II. osztályba tartozó MT-k funkcionális analógjának tekinthetők. Megtalálhatók gomba-, moszat-, valamint minden eddig vizsgált növényfajban (Gekeler és mtsai., 1989; Rauser, 1995). A PC-k szerkezeti rokonságban állnak az általánosan előforduló tripeptid glutationnal (GSH: γ -Glu-Cys-Gly) és szerkezetükre a következő általános képlet jellemző: $[(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}]$, ahol $n=2-11$ (Kondo és mtsai., 1984; Grill és mtsai., 1985; Jackson és mtsai., 1987). Számos eltérő szerkezetű változatot is azonosítottak, ahol Gly-helyén Ser, $-\beta$ -Ala, -Glu áll, illetve nem kapcsolódik a vázhoz ligandum (Rauser, 1995; 1999).

Mind a gombákban, mind a magasabb rendű növényekben a Cd-PC komplexek a vakuólumban akkumulálódnak. A PC-Cd komplex kialakulását - Cd-tiolátként - kimutatták (Strasdeit és mtsai., 1991). A PC-nehézfém komplexek tonoplaszt membránon történő áthaladást ABC-típusú transzportfehérjék segítik (Tommasini és mtsai., 1998; Rea, 1999). A citoplazmában alacsony molekulásúlyú PC-Cd komplexek fordulnak elő, melyek transzportálódnak a vakuólumba, ahol nagy molekulásúlyú komplexek alakulnak ki S^{2-} beépülésével (2. ábra, Ortiz és mtsai., 1995; Cobbett, 2000). A Cd mellett más fémek PC komplexét is kimutatták, mint az Ag, Cu (Maitani és mtsai., 1996) és As (Schmöger és mtsai., 2000). A PCs szerepét a toxikus Cd detoxifikálásában az *Arabidopsis cad1* mutánsal igazolták, mely a vad típusra jellemző GSH szint ellenére PC hiányos és Cd^{2+} hiperszenzitív volt (Howden és mtsai., 1995). A *CADI* gént (*AtPCSI*) klónozták (Ha és mtsai., 1999), és megállapították, hogy a PC-szintáz kódolja.

2.5.3.3. Egyéb intracelluláris fémkötő ligandumok: szerves savak

A fémionok kötést tudnak kialakítani a szerves vegyületek S-, N- és O-atomjaival, így a karbonsavak ($R\text{-COOH}$), illetve az aminosavak és peptidek potenciális ligandumok lehetnek. A citromsav (Lee és mtsai., 1977), az almasav (Brooks és mtsai., 1981), a hidroxiborostyánkősav (Brooks és mtsai., 1981), az oxálsav (Lyon és mtsai., 1969; Mathys, 1977) és a mustárolaj-glikozid (Mathys, 1977) már régóta ismertek, mint növényi fémkötő ligandumok. Ezek a szerves savak a különböző fém-tolerancia mechanizmusok kialakításában, a fémionok transzportjában, vakuólumba történő szállításában, raktározásában és inaktiválásában játszanak szerepet (Rauser, 1999). Az akkumulálódott fémionok legnagyobb intracelluláris tárolója a növényeknél a vakuólum, ahol a szerves komplexképző ligandumok nagy koncentrációban fordulnak elő (Godbold és mtsai., 1984; Marschner, 1995).

A citromsavat tartják a fő Cd^{2+} -kötő ligandumnak alacsony Cd^{2+} koncentrációknál (Wagner, 1993), de Ni-hiperakkumuláló növényeknél Ni^{2+} -al is képez komplexet (Sagner és mtsai., 1998), ill. részt vesz a Zn^{2+} akkumulációban és toleranciában is (Mathys, 1977; Brooks és mtsai., 1981; Godbold és mtsai., 1984). A citromsavhoz hasonlóan az almasavat is citoszolikus Zn-kelátornak tartják a Zn-toleráns növényekben (Mathys, 1977). *Brassica juncea*-ban a Cd^{2+} kötés röntgensugaras analízise azt mutatta, hogy a xilémben elsősorban az O és N-tartalmú ligandumokhoz, míg a gyökérben S-tartalmú (PCs) ligandumokhoz kötődik a Cd (Salt és mtsai., 1995). Napjainkig a fémstressz hatására bekövetkező szerves sav koncentráció változás egyetlen jól dokumentált esete az ún. hisztidin-válasz (Krämer és mtsai., 1996): Ni-stressz hatására a Ni-hiperakkumuláló *Alyssum lesbiacum* xilém nedvében megemelkedik az aminosav tartalom, melyet a nem-hiperakkumuláló *Alyssum montanum*-nál nem figyeltek meg. Ez majdnem kizárólag a hisztidin tartalom növekedésének a következménye volt, és lineáris függést figyeltek meg a xilém Ni és hisztidin koncentrációja között.

2.6. A gabonafélék réztoleranciájának és mikroelem felvételének genetikai kontrollja

Gartside és McNeilly (1974) a termesztett növényeket vizsgálva megállapította, hogy a réztolerancia eltérő mértékű az agronómiailag fontos növényekben. Bradshaw (idézte: Manyowa és Miller, 1991) a réztolerancia gének potenciális forrásaként a tarackbúzát (*Agropyron repens*) jelölte meg, mely extrém módon toleránsnak bizonyult a talaj magas réztartalmával szemben.

A gabonafélék réztoleranciájának genetikájáról áttekintést Manyowa és Miller (1991) munkája ad: a *Thinopyrum bessarabicum* és a rozs (*Secale cereale*) réztoleranciájának vizsgálata azt mutatta, hogy a toleranciában szerepet játszó gének elsősorban a 2E^b és 2R kromoszómán lokalizálódnak (Manyowa, 1989). Kisebb, de fontos hatással bíró módosító gének az 5E^b, 5E^bL/6E^bL (*Th. bessarabicum*) és az 5R (rozs) kromoszómán találhatók. Búzánál nagy hatást gyakorolt a réztoleranciára: 5A, 4D és 7D ('Chinese Spring'/*T. spelta* szubsztitúciós sor) illetve 5A, 7A és 7B ('Chinese Spring'/'Synthetic' szubsztitúciós sor; 'Synthetic': *Triticum turgidum* ssp. *dicoccon* x *Aegilops tauschii* amfiploid), mely vizsgálatok az 5A kromoszóma kiemelt szerepét támasztják alá (Manyowa, 1989).

Búza- *Aegilops geniculata* (UM genom) hibrid vonalak réztoleranciájának vizsgálata azt mutatta, hogy a 3U kromoszóma játszik szerepet a többlet réz tolerálásában (Landjeva és mtsai., 1998).

Búza-rozs kromoszóma addíciós vonalakkal végzett vizsgálatok alapján a hajtás Mn- és Fe-koncentrációkra szignifikáns hatást gyakorolt a 2R és 7R kromoszóma, a Zn-koncentrációra az 1R, míg a hajtás Cu-koncentrációkra az 5R kromoszóma (Schlegel és Cakmak, 1997). A búza és közeli rokonfajok Cu-toleranciájában és Cu-felvételében szerepet játszó kromoszómákat az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat. A Cu-stressz tolerálásában és a Cu-felvételben szerepet játszó kromoszómák azonosítása rozs és búza fajoknál (Manyowa, 1989; Schlegel és Cakmak, 1997 munkái alapján).

Jelleg	Faj	Kromoszómák						
		1	2	3	4	5	6	7
Cu-stressz	rozs		2R			5R		
	búza					5A		7A
								7B
					4D			7D
Cu-felvétel	rozs					5R		

Bár a réztoleranciára hatást gyakoroló kromoszómákat már meghatároztak (Manyowa, 1989), azonban napjainkig még egyetlen réztoleranciát befolyásoló gént vagy QTL-t sem sikerült azonosítani. Manyowa (1989) a réztolerancia vizsgálatait során búza/rozs addíciókat, valamint búza/szintetikus búza és búza/tönkölybúza szubsztitúciókat használt, így búza/búza szubsztitúciók elemzéséről sem áll rendelkezésre kísérleti eredmény. Hasonló a helyzet a Cu-felvétellel kapcsolatban: Schlegel és Cakmak (1997) búza/rozs addíciós vonalak segítségével

ugyan a rozs 5R kromoszóma Cu-felvételre gyakorolt hatását igazolta, de QTL-eket, géneket még e jelleg tekintetében sem azonosítottak.

2.7. A réztolerancia genetikai és fizikai térképezésére alkalmas módszerek

2.7.1. Genetikai markerek

A genetikai marker olyan morfológiai tulajdonság, fehérje, vagy DNS fragmentum, mely alkalmas a növény valamilyen külső ill. belső struktúrájának vagy biológiai folyamatának a jelölésére. A növénynemesítők a 60-as évek végéig elsősorban *morfológiai* markereket használtak, majd a 70-es évektől – a gélelektroforézis technika elterjedésével – a *biokémiai* (izoenzim) markerek felhasználása vált általánossá. A 80-as években terjedtek el a *molekuláris markerek*, amelyek fehérje és/vagy DNS szinten azonosítják a polimorfizmust.

A DNS markerek alkalmazásának nagy előnye, hogy nagyfokú variabilitást mutatnak, és a környezet, illetve a génközösinterakciók nem befolyásolják megjelenésüket. DNS markerek (2. táblázat) lehetnek hibridizáció (RFLP), vagy *PCR* alapú markerek (pl. RAPD, AFLP, SSR, SNP, stb.).

Az első teljes búza genetikai térképek RFLP markereket tartalmaztak (Chao és mtsai., 1989; Devos és Gale, 1993; Devos és Gale, 1997), majd a PCR-alapú markerek megjelenésével a RAPD (Williams és mtsai., 1990), AFLP (Vos és mtsai., 1995) és SSR (Röder és mtsai., 1998; Pestsova és mtsai., 2001; Gupta és mtsai., 2002) markerekkel készített genetikai térképek váltak egyeduralkodóvá. A PCR-alapú – elsősorban SSR – markerek a legjobban használhatók a növénynemesítésben (Gupta és Varshney, 2000), ahol több ezer növény minél gyorsabb tesztelésére van szükség a lehető legkisebb költségek mellett. Az SSR markerek a korszerű kapilláris elektroforetikus technikákkal kombinálva kiváló alapot nyújtanak a marker alapú szelekció (*Marker Assisted Selection* – MAS) megvalósítására a növénynemesítésben.

2. táblázat. A jelenleg általánosan használt marker technikák összehasonlítása.

	RFLP	RAPD	SSR	AFLP	SNP
<i>Lényege</i>	Restrikció endonukleázzal, Southern blott, hibridizáció	DNS amplifikálás véletlenszerűen választott primerekkel	Egyszerű szekvencia ismétlődések PCR-reakciója	Restrikció endonukleázzal, adapterek ligálása, PCR-reakció szelektív primerekkel	Szekvencia elemzés
<i>Előfordulás a genomban</i>	Magas	Nagyon magas	Közepes	Nagyon magas	Közepes
<i>Polimorfizmus típusa</i>	Bázispárcsere, inszerció, delécio	Bázispárcsere, inszerció, delécio	Változás az ismétlődések számában	Bázispárcsere, inszerció, delécio	Bázispárcsere
<i>Polimorfizmus szintje</i>	Magas	Közepes	Nagyon magas	Közepes	Magas
<i>Dominancia (kiértékelés)</i>	Kodomináns	Domináns	Kodomináns	Domináns	Domináns
<i>Egy próbával analizálható lokuszok száma</i>	1-2	5-10	1	100-150	1
<i>Előzetes szekvencia információ</i>	Nem szükséges	Nem szükséges	Szükséges	Nem szükséges	Szükséges
<i>Kifejlesztési költség</i>	Magas	Alacsony	Magas	Közepes	Magas
<i>Vizsgálatonkénti költség</i>	Közepes	Alacsony	Közepes	Közepes	Magas
<i>Ismételhetőség</i>	Nagyon jó	Többivel összevetve alacsony	Nagyon jó	Jó	Nagyon jó
<i>Nehézség</i>	Eszköz igényes	Könnyű	Könnyű	Elsajátítani nehéz	Nehéz

2.7.2. Mikroszatellit (SSR) markerek alkalmazása

Minden eukarióta genom tartalmaz ún. mikroszatellit (Litt and Luty, 1989) vagy másnéven *simple sequence repeat* (SSR – Tautz és mtsai., 1986) szekvenciákat. A mikroszatellitiek 6 bp-nál rövidebb szekvenciák tandem ismétlődéseit tartalmazzák. A mikroszatellitiek analizálása a polimeráz láncreakción (PCR) alapszik (Condit és Hubbell, 1991; Akkaya és mtsai., 1992; Morgante és Olivieri, 1993), a főbb lépések a következők (Nagy, 1999):

1. A genomikus DNS fragmentálása.
2. Rövid inszertméretű klontárak előállítása.
3. A repetitív szekvenciákat tartalmazó klónok azonosítása és kiemelése a genomikus klontárból.
4. A klónok szekvenciájának meghatározása.

5. Lókuszspezifikus PCR-primerek tervezése a mikroszatellit motívumokat határoló DNS szakaszokra.
6. Az adott genomikus DNS-szakasz PCR-amplifikációja a primerek segítségével.
7. Az amplifikációs termékek hosszpolimorfizmusának analízise nagyfelbontású szeparációs technikák segítségével.

Az SSR markerek kifejlesztése időigényes és költséges: a mikroszatellit szekvenciákhoz kifejlesztett primer-pároknak mindössze 30 %-a használható genetikai vizsgálatokhoz (Röder és mtsai., 1995, Bryan és mtsai., 1997). Ezt azonban ellensúlyozza, hogy analízisük kiválóan reprodukálható, a módszer gyors, és könnyen elsajátítható. A mikroszatelliteknél a polimorfizmus is nagyobb, mint az RFLP markerek esetében, továbbá az SSR markerek túlnyomó része kodominánsan öröklődik, és a legtöbb esetben kromoszóma specifikus is (Röder és mtsai., 1998). A közeljövőben a markerek következő generációja (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism* markerek) ugrásszerűen felgyorsíthatja a nagyfelbontású térképek készítését (Koeber és Summers, 2003).

2.7.3. Térképezési populációk

A genetikai térkép elkészítésének elengedhetetlen feltétele a megfelelő térképezési populáció, ahol a szülőknek a térképezni kívánt tulajdonságban különbözniük kell. Amennyiben az adott jelleget több nagyobb hatású QTL is befolyásolja, érdemes olyan populációt is letesztelni, ahol szülők között nincs jelentős fenotípusos különbség. A rekombináns vonalakban ugyanis olyan új allélkombinációk is kialakulhatnak, melyek a szülői formáktól szignifikánsan eltérő fenotípusok megjelenéséhez vezethetnek (transzgresszív segregáció). Minél több egyedből áll a térképezési populáció, annál pontosabb lesz mind a kapcsoltsági térkép, mind a QTL analízis. A legtöbb térképezési populációt közel homozigóta szülők keresztezésével állítják elő.

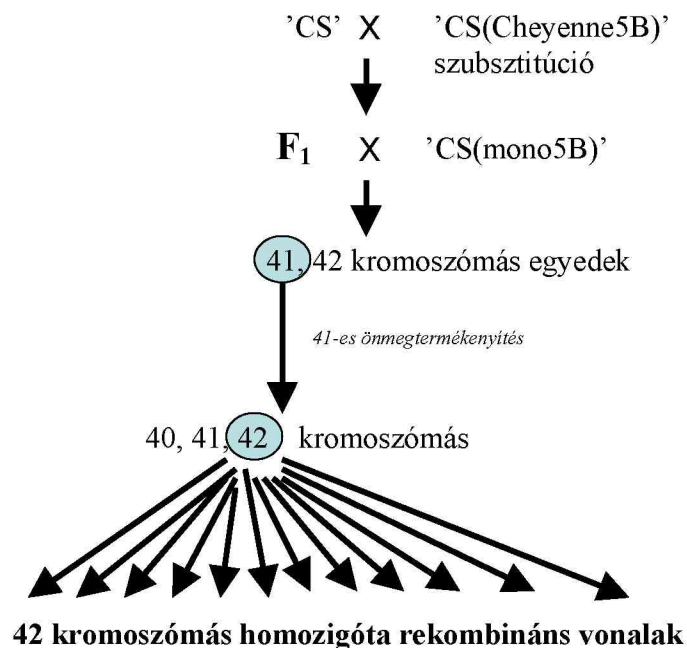
Az F_2 , és visszakeresztetett (*Backcross*, BC) populációk könnyen használhatók önmegporzó fajoknál, előállításuk gyors, azonban alkalmazásukkal csak korlátozott számú magot nyerhetünk, illetve nem tudjuk megismételni a kísérleteket.

Ha többszöri fenotípus vizsgálatot szeretnénk végezni, stabilan fenntartható térképezési populációkkal kell dolgoznunk. Ezek közé tartoznak a dihaploid (*Doubled Haploid*, DH) vonalokból, a rekombináns beltenyésztett vonalokból (*Recombinant Inbred Lines*, RIL), vagy egy kromoszómára rekombináns vonalokból (*Single Chromosome Recombinant Lines*, SCRL) álló térképezési populációk.

A DH populációk előállítása gyors (Snape és mtsai., 1984 , Varshney és mtsai., 2004), és az utódok mind homozigóták a különböző lokuszokon. A dihaploid vonalakat a szülők keresztezéséből létrejött F_1 növények haploid gamétáiból származó kromoszómák megduplázásával állítják elő. A DH populációkat genetikai térképek megszerkesztésére (pl. árpa RFLP-térkép: Heun és mtsai., 1991; Graner és mtsai., 1991), és QTL-ek térképezésére is felhasználják (pl. búza B-tolerancia: Jefferies és mtsai., 1999, 2000).

A RIL-eket hat-nyolc generáción át tartó sorozatos önbeporzással állítják elő, mely után az egyedek gyakorlatilag homozigóták lesznek, és a kétféle szülőtől származó kromoszóma szegmenteiket mozaikszerűen hordozzák (Mohan és mtsai., 1994). A RIL-ek hátránya, hogy előállításuk időigényes, és a genom bizonyos régiói jóval tovább heterozigótikusak maradnak, mint azt korábban feltételezték (Varshney és mtsai., 2004).

Ha előzetes kísérletekből ismert, hogy a vizsgált tulajdonságot befolyásoló gén(ek) melyik kromoszómán helyezkednek el, a térképezéshez egy kromoszómára rekombináns vonalából (SCRL) álló térképezési populáció is használható. Ebben az esetben a térképezési populáció szülei egy kromoszóma kivételével azonosak, csak a vizsgálni kívánt kromoszóma származik egy másik genotípusból (pl. szülő 1: 'Chinese Spring', szülő 2: 'Chinese Spring' ('Cheyenne5B') szubsztitúció). Az ilyen vonalakat úgy teszik stabilan fenntarthatóvá, hogy az F_1 növényt apai szülőként keresztezik egy monoszómás vonallal, melynek a vizsgálni kívánt egyik kromoszómája hiányzik (3. ábra). Ezután a 41 kromoszómaszámú genotípusokra szelektálnak. Ezt az utódot önbeporozva a rekombináns kromoszómát megduplázzák, majd a 42-es kromoszómaszámú egyedeket kiválogatják gyökércsúcsból történő kromoszóma számlálással. A 42 kromoszómát tartalmazó egyedeket felnevelik, és önbeporzással szaporítják (3. ábra).



3. ábra. Egy kromoszómára rekombináns térképezési populáció előállításának sémája.

2.7.4. Genetikai kapcsoltsági térkép elkészítése

Genetikai térkép megszerkesztéséhez olyan szegregáló térképezési populációra van szükségünk, ahol polimorf markerekkel az egyedek genotípusa meghatározható. A térképszerkesztéshez meg kell határozni markerpáronként a rekombinációs gyakoriságot, amelyből térképfüggvények (Kosambi, 1944; Haldane, 1919) segítségével a köztük levő térképtávolság kiszámítható, majd hárompontos térképezésekkel megállapítható a markerek egymáshoz viszonyított elhelyezkedése. A közös markereket tartalmazó hárompontos térképek átfedéseivel kapjuk meg a kapcsoltsági csoportokat, és a markerek sorrendjét. Ez az eljárás meglehetősen bonyolult számításokat tartalmaz, speciális számítógépes programok segítségével (MAPMAKER, JoinMap) azonban gyorsan és megbízhatóan elvégezhetők.

A gabonafélék genomjai között nagy mértékű homológia figyelhető meg (Gale és Devos, 1998), így az egyes genomokban kapott térképezési eredmények támpontul szolgálnak más genomokban történő térképezésekhez.

2.7.5. Kvantitatív jellegek

2.7.5.1. Kvantitatív jellegek fogalma, térképezése

Mind az állatoknál, mind a növényeknél az egyes öröklött jellegek gyakran több gén

által befolyásoltak (poligénes öröklődés). Az ilyen jelleg nagyszámú egyeden vizsgálva nem határozottan elkülönülő fenotípusokban, hanem folytonos eloszlásban jelenik meg (pl. termésmennyiség, növénymagasság, stb.). Ezen jellegek kifejeződését a környezet is nagymértékben befolyásolhatja, így a fenotípusos variabilitást a környezeti tényezők is okozhatják.

Az ilyen tulajdonságokat mennyiségi (kvantitatív) jellegeknek nevezzük, az e jellegeket szabályozó lókuszokat pedig mennyiségi jellegeket meghatározó lókuszoknak (*Quantative Trait Loci*), röviden QTL-eknek nevezzük. A mennyiségi jelleg kialakításában több QTL is részt vehet, legtöbbször egy – néhány nagy (*major*), és több, változó számú kis (*minor*) lókusszal. Ha QTL-ről beszélünk, akkor ez alatt a kromoszóma egy adott, viszonylag szűk régióját értjük, mely azonban több gént is magában foglalhat.

Mennyiségi jellegek térképezésekor a vizsgált populáció egyedeit kodomináns markerrel meghatározott genotípusok alapján két homozigóta csoportba soroljuk, majd statisztikai módszerekkel vizsgáljuk, hogy milyen szoros a kapcsolat az egyes marker allélok jelenléte és bizonyos fenotípusok megjelenése között. Szignifikáns kapcsolat esetén az adott marker nagy valószínűséggel a vizsgált fenotípust meghatározó QTL közelében helyezkedik el.

A legegyszerűbb módszer a QTL analízishez az ún. *single marker* analízis (Sax, 1923; Edwards és mtsai., 1987), amikor a fenotípusos adatok átlagát marker szerint képzett csoportok alapján hasonlítjuk össze egyszerű variancia analízissel (*single marker ANOVA*) vagy lineáris regresszióval (*single marker regression*). A szignifikáns különbség jelzi, hogy az adott marker kapcsolt a vizsgált tulajdonságot befolyásoló génnel. A módszerrel azonban nem lehet a QTL pozícióját pontosan meghatározni, csak azt, hogy melyik markerrel kapcsolt legszorosabban. A módszer hibája kis markersűrűségű térképeknél jelentkezik: kis hatás esetén nem lehet eldönteni, hogy valóban egy szorosan kapcsolt, kis hatású QTL-ről van szó, vagy egy távolabbi, nagy hatásúról. A többszörös, kapcsoltan elhelyezkedő QTL-ek gyakran nem detektálhatók.

Az előbb említett hiányosságok jó részét kiszűri az intervallum térképezési módszer, mellyel már pontosabban meg lehet határozni a QTL-ek pozícióját. A módszer a *single marker* módszerektől eltérően nem egyedi marker lókuszokat, hanem a vizsgált QTL-t szegélyező marker párokat („*flanking markers*”) vizsgál. Az intervallum térképezésnél alapvetően 2 megközelítést használnak: a regressziós módszert (ezt nevezik egyszerű intervallum térképezésnek – *Simple Interval Mapping (SIM)*, Haley and Knott, 1992), és a

maximum-likelihood módszert (*maximum-valószínűség* módszer, általában ezt nevezik *Interval Mapping*-nak (*IM*), Lander és Botstein, 1989).

A regressziós módszer esetében a szignifikancia tesztelése az ún. *Likelihood ratio test* (*LRT*) segítségével történik. Ilyen térképezés – az elméleti háttér ismeretében - végrehajtható a legtöbb statisztikai szoftverrel, speciális számítógépes programokkal (PLABQTL), illetve on-line alkalmazásokkal az interneten (QTL Cafe).

A maximum-likelihood modell alkalmazása esetén a QTL szignifikanciájának tesztelésére a LOD-értéket használják, mely a „*Logarithm of Odds*”-t jelenti:

$$\text{LOD} = \lg(\text{feltételezett QTL meglétének maximális valószínűsége} / \text{a feltételezett QTL hiányának maximális valószínűsége})$$

LOD=2 tehát azt jelenti, hogy $10^2=100$ -szor nagyobb annak a valószínűsége, hogy az adott pozícióban QTL van, mint annak a valószínűsége, hogy nincs. A regressziós módszerrel kapott QTL-ek hatása és pozíciója általában közel azonos a maximum-likelihood módszerrel kapott eredményekkel (Haley és Knott, 1992), ugyanakkor a regressziós módszer jóval kevésbé számítás-igényes. A maximum-likelihood módszer talán egyetlen hátránya, hogy csak speciális számítógépes szoftverekkel lehet kivitelezni (MAPMAKER/QTL, MapQTL), azonban az így kapott eredményeket megbízhatóbbnak tartják, mint a regressziós módszerrel kapottakat.

Az egyszerű intervallum térképezés a QTL-ek nagy pontosságú becslését teszi lehetővé, amennyiben a populáció nem tartalmaz egynél több, az adott jelleget befolyásoló QTL-t a vizsgált intervallumban. Ahhoz, hogy egy populáción egyszerre több szegregáló QTL-t analízáljunk nagy pontossággal, összetett intervallum térképezést (*Composite Interval Mapping* (*CIM*) vagy *Multiple QTL Model-Mapping* (*MQM-Mapping*), Jansen, 1993; Jansen, 1994; Jansen és Stam, 1994; Zeng, 1994) kell alkalmaznunk. Ez a módszer az egyedi QTL-ek intervallum térképezéssel való azonosításából, és a vizsgált intervallumon kívül található markerekkel történő regressziós analízisból áll. Jelenleg több szoftver is elérhető, melyek segítségével a *CIM* analízis pontosan, és gyorsan végrehajtható (QTL Cartographer, QGENE, MapQTL).

A nagyobb hatású QTL-ek detektálásának hatékonyságát növeli az ún. „*selective genotyping*” (szelektív genotipizálás) módszer alkalmazása (Lander és Botstein, 1989). A lényege, hogy a genotípusos értékelést (és a QTL analízist) nem a teljes populáción, hanem a fenotípusos adatok függvényében csak azokon a genotípusokon végezzük el, amelyek a

vizsgált jelleg tekintetében a szélső értékeket képviselik. Így csak a legkisebb ill. legnagyobb fenotípusos értékű vonalak genotipizálását végezzük el (ezeknek a legnagyobb az információ értéke számunkra), majd ezeken a vonalakon végzünk QTL analízist. Hasonló egyszerűsítést tartalmaz az ún. „*bulk segregant analysis*” (BSA, csoport szegregálás elemzése, Michelmores és mtsai., 1991), melyet főként PCR-alapú markerek segítségével végeznek el. A fenotípusos értékelés után két csoportra osztják a genotípusokat: kis értékű részre és nagy értékű részre. A genotipizálás során olyan markert keresnek, mely elkülönülten – túlnyomórészt – csak az egyik ill. csak a másik „bulk”-ban (csoportban) van jelen. Ez a módszer olyan jellegeket befolyásoló QTL-ek detektálására alkalmas, ahol 1-2 nagy hatású QTL-t keresünk (pl. betegségrezisztencia).

A QTL-ek pontos helyét sajnos viszonylag kis precizitással lehet meghatározni. Egy adott QTL „konfidencia intervalluma” (az a tartomány, amelyen belül a QTL bárhol előfordulhat) a maximum likelihood módszerrel általánosan 15-20 cM-os régiót fed le (Lee, 1995). Ez a pontosság a marker alapú szelekcióhoz még megfelelő, azonban a térkép alapú klónozást (*map-based cloning*) már csak nehezen teszi lehetővé. A pontosság javításán több marker alkalmazása nem, csak több rekombináns vonal felhasználása javít (Kearsey és Farquhar, 1998).

2.7.5.2. LOD-szignifikancia küszöbérték meghatározására alkalmas módszerek

A QTL analízis során alapvetően két hiba fordulhat elő: amikor hamis (*fals positive*) QTL-t detektálunk (ez az ún. *Type I error*), illetve amikor a létező QTL-t nem tudjuk detektálni (*Type II error*). A kísérlet megfelelő megtervezése mellett a megfelelő statisztikai módszerek segíthetnek ezen hibák kiküszöbölésében.

A QTL analízis alapfeltevései közé tartozik, hogy a vizsgált vonalak reprezentívak a teljes populációra nézve, illetve a vizsgált jelleg - QTL-ről, mennyiségi jellegről lévén szó - eloszlása a normálishoz közeli. Amennyiben az eloszlás eltér a normálistól, ill. a minták nem reprezentatívak a teljes populációra - melynek oka elsősorban a túl kevés vizsgálatba vont rekombináns vonal lehet - a teszt statisztika túlbecsüli a kapott eredmény megbízhatóságát.

A fentiek miatt a mért mennyiségi adatok normális eloszlástól való eltérése, valamint a minta méret (vizsgált egyedek száma) és a térképezett markerek száma egyaránt befolyásolja a teszt statisztikát, és így végső soron meghatározza a LOD-küszöbértéket, melyet az intervallum térképezés során a szignifikáns QTL detektálásához használnunk kell. Általánosságban a 2.5 - 3.5 (1 %-os megbízhatóság) ill. 1.5 - 2.5 (5 %-os megbízhatóság) feletti LOD értéket tekintik elég nagyknak ahhoz, hogy a talált QTL hatás valódi legyen. LOD

≥ 2.0 esetén kis (*minor*), míg $\text{LOD} \geq 3.0$ esetén nagy (*major*) QTL-ről beszélünk (Börner és mtsai., 2002).

A QTL szignifikancia küszöbérték megállapításához mind analitikus (becslést, megközelítést alkalmazó), mind empirikus (tapasztalati, a kapott adatok permutációjára épülő) módszerek felhasználhatók.

Analitikus módszerek: A Rebai és mtsai (1994) által leírt, közelítéssel kapott küszöbértékek a legmegfelelőbbek a közepes sűrűségű térképek esetében (egy marker 10 vagy több cM-onként), míg a többi módszer (Lander és Botstein, 1989; Feingold és mtsai., 1993; Dupuis, 1994) nagyszűrűségű térképek esetében megfelelő.

Empirikus-módszer: A LOD érték szignifikancia küszöbértékének meghatározásához a permutációs teszt is használható (Churchill és Doerge, 1994). A módszer lényege, hogy nagyszámú ismétléssel (ún. iterációkkal) a maximum LOD érték gyakorisági eloszlását meghatározzák. Minden egyes ismétlésben a fenotípusos adatokat véletlenszerűen rendelik az egyes genotípusokhoz, amelyet minden lépésben egy intervallum térképezés követ. A véletlenszerűen elrendezett adatokból kapott maximális LOD-értékek megmutatják, hogy mekkora a valószínűsége, hogy véletlen (*fals positive*) QTL-t azonosítsunk. Az általunk kapott QTL LOD értékének magasabbnak kell lennie, mint a fenotípusos adatok véletlenszerű elrendezésével kapott maximális LOD értéknek.

2.7.6. Szubsztitúciós, deléciós vonalak és egyéb citogenetikai anyagok felhasználása

Amennyiben semmilyen előzetes információval nem rendelkezünk az adott jelleget befolyásoló (meghatározó) gének kromoszómális lokalizációjával kapcsolatban, akkor első lépésben megfelelő szubsztitúciós sorozatok tesztelésével a kromoszómális lokalizáció meghatározható. A megfelelő szubsztitúciós sorozat azt jelenti, hogy a szülőknek a vizsgálni kívánt jellegben különbözniük kell. A kromoszómális lokalizációról kaphatunk még addíciós, monoszómás, nulli-tetraszómás sorozatok tesztelésével is információt.

Deléciós sorozatok tesztelésével nem csak a kromoszómális lokalizációt, de a kromoszómán belüli fizikai pozíciót is meg tudjuk határozni (pl. búza: *Vrn-A1* és *Fr1* gének térképezése az 5A kromoszómán – Sutka és mtsai., 1999). Deléciós sorozatok hátránya azonban, hogy homozigóta deléciók csak korlátozott számban állnak rendelkezésre, illetve a létező deléciók az adott kromoszómának csak egy részét fedik le (Endo és Gill, 1996). Ha az adott jelleget meghatározó gén az utolsó deléciós töréspont mögött helyezkedik el, akkor ezzel a módszerrel erről a génről semmilyen információt nem kapunk. A deléciós sorozatok ugyanakkor lehetőséget teremtenek arra, hogy a genetikai térképeket a fizikai térképekkel

összevessük. Az utóbbi évtizedben több mint 1000 molekuláris markert (*RFLP* és mikroszatellit) térképeztek fizikailag deléciók segítségével, valamint EST-k (*Expressed Sequence Tags*) térképezését is elkezdtek (Qi és mtsai., 2003). Az USA-ban jelenleg egy 13 kutatóállomásból álló konzorcium foglalkozik 10000 unikális EST fizikai térképezésével deléciós vonalak segítségével (http://wheat.pw.usda.gov/NSF/progress_mapping.html, Varshney és mtsai., 2004), így a közeljövőben lehetővé válhat a QTL-ekhez közvetlenül a feltételezett gén – és ezáltal a konkrét funkció – hozzárendelése is.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vad és termesztett gabonagenotípusok réztoleranciájának tesztelése vízkultúrában

3.1.1. Réztolerancia teszt

A Martonvásári Gabona Génbank kísérleti parcelláin termesztett 27 különböző genotípust (8 *Aegilops*, 5 alakor, 6 kenyér búza, 5 egyéb búza, 2 rozs és 1 tritikálé) használtuk a vizsgálatokhoz (3. táblázat).

3. táblázat. A génbanki anyag réztolerancia teszteléséhez felhasznált fajok/fajták

Sorszám	Fajok/fajták	Genomformula	Génbanki szám	Eredet (Donor intézet/személy/ország)
1	<i>Aegilops biuncialis</i>	UM	MVGB702	ICARDA, Szíria
2	<i>Aegilops caudata</i>	C	MVGB607	Univ. of California, USA
3	<i>Aegilops cylindrica</i>	DC	MVGB623	Braunschweig, Németország
4	<i>Aegilops kotschy</i>	US	MVGB617	Univ. of California, USA
5	<i>Aegilops speltoides</i>	S	MVGB621	Braunschweig, Németország
6	<i>Aegilops tauschii</i>	D	MVGB591	VIR, Oroszország
7	<i>Aegilops triuncialis</i>	UC	MVGB723	Gatersleben, Németország
8	<i>Aegilops umbellulata</i> ssp. <i>transcaucasica</i>	U	MVGB420	VURV, Csehország
9	<i>Secale cereale</i> cv. 'Merkator'	R	-	Lengyelország
10	<i>Secale montanum</i>	R	-	ismeretlen
11	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Bánkúti1201'	ABD	-	Magyarország
12	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Cheyenne'	ABD	-	Kanada
13	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Chinese Spring'	ABD	-	Kína
14	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Kobomugi'	ABD	-	Mongólia
15	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Mv-Magdaléna'	ABD	-	Magyarország, MTA MgKi
16	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Mv-8'	ABD	-	Magyarország, MTA MgKi
17	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>spelta</i> var. <i>neglectum</i>	ABD	MVGB142	ismeretlen
18	<i>Triticum monococcum</i> ssp. <i>monococcum</i> var. <i>flavescens</i>	A	MVGB820	Gatersleben, Németország
19	<i>Triticum monococcum</i> ssp. <i>monococcum</i> var. <i>vulgare</i>	A	MVGB16	Gatersleben, Németország
20	<i>Triticum monococcum</i> ssp. <i>monococcum</i> tájfajta	A	ELEK	Szabó T. Attila / Erdély
21	<i>Triticum monococcum</i> ssp. <i>monococcum</i>	A	DV92	J. Dubcovsky, USA
22	<i>Triticum monococcum</i> ssp. <i>monococcum</i>	A	G2528	J. Dubcovsky, USA
23	<i>Triticum sinskajae</i> var. <i>sinskajae</i>	A	MVGB647	VIR, Oroszország
24	<i>Triticum timonovum</i>	AAGG	MVGB243	A. Belea, MTA MgKi
25	<i>Triticum timopheevii</i> var. <i>timopheevii</i>	AG	MVGB119	Gatersleben, Németország
26	<i>Triticum zhukovskyi</i>	AGA	MVGB934	NSGC, USA
27	Tritikálé cv. 'Presto'	ABR	-	Lengyelország

Csíráztatás előtt a magvakat 20 percig 10 x HYPO oldatban sterilizáltuk, majd 20 perc folyóvízes öblítés után 4 órát duzzasztottuk csapvízben. A csíráztatás 25 °C-on, petri-csészében, két réteg nedves szűrőpapír között történt. Az egyes fajok elhúzódó csírázása miatt a 4. napig csak csapvízben nevelkedtek a növények, az 5. napon helyeztük őket tápoldatba, és ekkor kezdtük el a rézkezelést. Tápoldatként rézmentes Hoagland-oldatot használtunk:

Tápoldat összetétele (10 liter):

1 l Makrotörzsoldat
2.5 ml mikrotörzsoldat
100 ml Fe(III)-EDTA törzsoldat

Makrotörzsoldat (1 liter):

5.055 g KNO₃
11.81 g Ca(NO₃)₂ · 4 H₂O
4.932 g MgSO₄ · 7 H₂O
1.361 g KH₂PO₄

Mikrotörzsoldat (100 ml rézmentes):

286 mg H₃BO₃
362 mg MnCl₂ · 4 H₂O
22 mg ZnSO₄ · 7 H₂O
12 mg Na₂MoO₄ · 2 H₂O

Fe(III)-EDTA törzsoldat (1 liter):

4 g Fe(III)-EDTA

A rézkezeléshez réz-szulfátot (CuSO₄ · 5 H₂O) használtunk, a kontroll oldat rézkoncentrációja 10⁻⁷ M, a kezelt oldaté 10⁻⁴ M volt, mely koncentrációkat az előkísérletek alapján választottuk ki (Bálint és mtsai., 2001). A tápoldat pH-ját 5.8-ra állítottuk be 1 N HCl-lel és 1 N KOH-val. A tápoldatot hetente cseréltük, az elpárolgott tápoldatot desztillált vízzel naponta pótoltuk.

A kísérletet kontrollált körülmények között, növénynevelő kamrában végeztük el. A fitotronkamra típusa: Conviron PGR 15, Controlled Environment LTD, Winnipeg Manitoba, Canada. A nevelési paraméterek a következők voltak: hőmérséklet (T): 15/10 °C nappal/éjszaka, 1 hét után 18/15 °C, fotoperiódus: 16/8-h (nappal 0-16 óra), relatív páratartalom (RH): 70/75 %, fényerősség: 220 μmol m⁻² s⁻¹. A kísérletet 3 párhuzamos ismétléssel végeztük el, minden ismétlésben 10-14 növényt vizsgáltunk. A növényeket háromhetes korukig neveltük, 3 hetes korban lemértük a növények hajtáshosszát és hajtás száraztömegét. A tolerancia mértékének megállapításához az ún. Tolerancia Indexet (TI) használtuk, mely az adott mért paraméter (pl. száraztömeg) kezelt és kontroll körülmények között mért értékének a hányadosa.

A száraztömeg értékeket 24 óra 105 °C-on történő szárítás után határoztuk meg, a méréseket a teljes hajtáson végeztük el.

3.1.2. Fluoreszcencia indukció mérése és az elemtartalmak meghatározása

A fluoreszcencia indukciós mérést PAM-2000 (Waltz, Effeltrich, Németország) készülékkel, 2 óra sötétadaptálás után végeztük el a legfiatalabb, teljesen kifejlett levélen. A Tolerancia Indexek kalkulálásához az F_v/F_m paramétert használtuk fel. Minden független mintában min. 5 növényt mértünk le, tehát összesen min. $3 \times 5 = 15$ mérés alapján kalkuláltuk az átlagokat. A fluoreszcencia indukciós méréseket 2 alkalommal, a csírázást követő 13. és 18. napon határoztuk meg. A Cu- és Fe-koncentrációkat Hitachi Z-8200 Zeeman polarizált atomabszorpciós spektrofotométerrel, lángatomizálással, levegő-acetilén lánggal határoztuk meg 0.2 g szárított növényi mintából, melyet cc.HNO₃ : cc.H₂O₂ 5:4 (V/V) arányú elegyével roncsoltuk el 160 °C-on 3 órán keresztül. Az elemtartalmakat mg/kg-ban (száraztömegre vonatkoztatva) fejeztük ki.

3.2. Talajos tesztelési rendszer kidolgozása búzafajták réztoleranciájának vizsgálatához

A talajos tesztelési rendszer kidolgozásához mind szabadtéri, mind fitotronos kísérleteket elvégeztünk, melyekhez a következő genotípusokat használtuk fel (4. és 5. táblázat):

4. táblázat. A szabadtéri kísérlethez felhasznált genotípusok.

Genotípus	Genomformula	Azonosító
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'GK-Öthalom'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'GK-Tiszatáj'	ABD	1997, Tükrös, 42izo

5. táblázat. A fitotron kamrás kísérletekhez felhasznált genotípusok.

Genotípus	Genomformula	Azonosító
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Chinese Spring'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Cappelle Desprez'	ABD	1997, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Hope'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Cheyenne'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>spelta</i>	ABD	1997, Tükrös, 42izo

3.2.1. Szabadtéri kísérlet

A vizsgálatokat kontroll, illetve rézkezelt talajon végeztük el, rézkezelés esetén a talajhoz annyi rézet adtunk, hogy a hozzáadott réz koncentrációja 0 (kontroll), 25, 125 és 375

mg/kg legyen a légszáraz talajban. A rézkezelést $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -val valósítottuk meg. A szilárd réz-szulfátot lisztfinomságúra porítottuk, majd a megfelelő mennyiséget egy ládányi - kb. 8 kg - szétterített talajhoz szórtuk, egyenletesen elosztva annak a felszínén. A ládák belső mérete: szélesség: 37 cm, hosszúság: 25 cm, magasság: 9 cm, felszín: $37 \times 25 = 925 \text{ cm}^2$, térfogat: $925 \times 9 = 8325 \text{ cm}^3$ (8.325 dm^3). A talajt ezután min. 10 percig kevertük, majd a ládába töltöttük. 1 ládába csak 1 fajtát, fajtánként 25 szemet ültettünk. Koncentrációnként és fajtánként 2 ismétlést alkalmaztunk. A korábbi módszer szerint előcsíráztatott magvakat 1999. október 21-én ültettük a ládába, majd a ládákat (összesen 16 láda) kihelyeztük a szabadba a martonvásári fitotron épülete mellé. 2 hónapos korban lemértük a növények hajtáshosszát, és ezekből az adatokból kalkuláltuk a Tolerancia Indexeket.

3.2.2. Fitotronkamrás kísérlet

A vizsgálatokat kontroll (hozzáadott réz nélküli), illetve rézkezelt (1000 mg/kg Cu) talajon végeztük. A rézkezelést a szabadtéri kísérlettel megegyező módon – szilárd, elporított réz-szulfát hozzáadásával -, illetve oldott formában a talaj felszínére permetezve is megvalósítottuk. Az oldat formában talajhoz adott rézt 10^{-4} M -os $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ oldatként, egyenletesen permetezve jutattuk a talajba. Egyszerre csak annyi mennyiséget permeteztünk a talaj felszínére, amennyit az fel tudott szívni, elkerülve így a összefolyások kialakulását, mely a réz feldúsulását eredményezheti egyes helyeken. A ládák mérete megegyezett a szabadtéri kísérletnél alkalmazottal, melyekbe az előcsíráztatott növényeket véletlen elrendezésű blokkokban ültettük. A blokkok 2 sorban, 15 oszlopban helyezkedtek el, 1-1 blokkba 5-5 azonos genotípust ültettünk (6. táblázat).

6. táblázat. Ültetési rend a fitotronkamrás kísérletnél.

Ch	CD	Ts	Ch	Ch	Ts	H	CD	H	Ts	CS	CS	Ts	Ch	Ch
CS	H	Ch	CD	CD	CD	H	H	H	Cs	Ts	Ts	Cs	Cs	CD

Rövidítések: Ch='Cheyenne', CD='Cappelle Desprez', Ts='Triticum spelta', H='Hope', CS='Chinese Spring'

A növénynevelő kamra típusa és a nevelési körülmények megegyeztek a korábbiakkal (3.1.1. fejezet). A növényeket a csírázást követő 2 hétig neveltük, ekkor lemértük a hajtáshosszakat valamint a hajtás friss- és száraztömegeket.

3.3. Szubsztitúciós sorozatok szülői vonalainak réztolerancia tesztje vízkultúrában és talajos rendszerben

A Martonvásári Gabona Génbankban rendelkezésünkre álló 4 búza szubsztitúciós

sorozat szülői vonalainak, és a 'Bánkúti1201' búzafajta (negatív kontrollként állítottuk be a kísérletbe, az előkísérletek alapján érzékenynek mutatkozott a rézzel szemben) réztoleranciájának tesztelését végeztük el (7. táblázat).

7. táblázat. A kísérlethez felhasznált genotípusok.

Genotípus	Genomformula	Azonosító
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Chinese Spring'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Cappelle Desprez'	ABD	1997, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Hope'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Cheyenne'	ABD	2000, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>spelta</i>	ABD	1997, Tükrös, 42izo
<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> cv. 'Bánkúti1201'	ABD	1999, Tükrös

A kísérletet mind vízkultúrára, mind talajos nevelési rendszerben elvégeztük. A vízkultúrára kísérlet esetén a csíráztatás menete, a tápoldat összetétele, a rézkezelés módja, és az alkalmazott rézkoncentrációk megegyeztek a korábban leírtakkal (3.1.1. fejezet).

A növényeket kontrollált körülmények között, növénynevelő kamrákban neveltük. A fitotronkamra típusa: Conviron PGR 15, Controlled Environment LTD, Winnipeg Manitoba, Canada. A nevelési körülmények a következők voltak: hőmérséklet (T): 22/20 °C nappal/éjszaka, fotoperiódus: 16/8-h (nappal 0-16 óra), relatív páratartalom (RH): 70/75 %, fényerősség: 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A kísérletet 3 párhuzamos ismétléssel végeztük el, minden ismételtsben 10-15 növényt vizsgáltunk. A növényeket 2 hetes korukig neveltük, ekkor lemértük a gyökér és hajtáshosszakát, valamint gyökér és hajtás friss- és száraztömegeket.

A talajos rendszer esetében a rézkezelés módja megegyezik a korábban leírt talajos rézkezelési módszerrel (szilárd, elporított réz-szulfát hozzákeverése a talajhoz – 3.2.1. fejezet). A rézkoncentráció 0 (kontroll) és 1000 mg/kg volt. Az előcsíráztatott növényeket véletlen blokkalrendezésben ültettük (Függelék, 8.1. táblázat), genotípusonként, ládánként 5 x 5 = 25 növényt, minden kezelést 3 x ismételtünk, így az egyes kezeléshez tartozó átlagokat 25 x 3 növény vizsgálata alapján kalkuláltuk.

A növényeket Conviron PGV 56 (Controlled Environment LTD, Winnipeg Manitoba, Canada) típusú növénynevelő kamrában neveltük a következő paraméterekkel: hőmérséklet (T): 18/15 °C nappal/éjszaka, fotoperiódus: 16/8-h (nappal 0-16 óra), relatív páratartalom (RH): 70/75 %, fényerősség: 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A kísérletet 3 párhuzamos méréssel végeztük, minden ismételtsben 25 növényt vizsgáltunk. A növényeket a csírázást követő 2 hetes korukig neveltük, ekkor lemértük a hajtáshosszakát, valamint a hajtás friss- és száraztömegeket.

3.4. 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat és a búza-rozs szubsztitúciók réztoleranciájának tesztelése

A kísérlethez a Martonvásári Gabona Génbankban izoláltan fenntartott 'Chinese Spring', 'Cappelle Desprez', ill. 'Chinese Spring' (recipiens)/'Cappelle Desprez' (donor) szubsztitúciókat használtuk, míg a búza-rozs szubsztitúciókat Andreas Börner (IPK, Genebank, Resources Genetics and Reproduction Group, Gatersleben, Németország) bocsátotta rendelkezésünkre (8. táblázat).

8. táblázat. A 'Chinese Spring' – 'Cappelle Desprez' búza szubsztitúciós sorozat és a búza-rozs szubsztitúciók réztolerancia teszteléséhez felhasznált genotípusok

Genotípus	Azonosító
'Chinese Spring' (CS)	1999, MTA MgKi, izo
'Cappelle-Desprez' (CD)	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 1A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 3A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 4A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 5A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 6A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 7A	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 1B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 3B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 4B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 5B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 6B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 7B	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 1D	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 2D	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 3D	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 5D	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 6D	1999, MTA MgKi, izo
CS/CD 7D	1999, MTA MgKi, izo
'Saratovskaya 29'	IPK-Gatersleben
Sarat29/Viet 5R(5A)	IPK-Gatersleben
Sarat29/Viet 1R(1A)	IPK-Gatersleben

Rövidítések: CS: 'Chinese Spring'; CD: 'Cappelle Desprez'; Saratovskaya29 ill. Sarat29: *T. aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Saratovskaya29'; Viet: *Secale cereale* cv. 'Vietnamskaya'.

A csíráztatás, az ültetés és a rézkezelés módja megegyezett a korábban leírtakkal (3.2.1. és 3.3. fejezet). Az alkalmazott rézkoncentrációk 0 (kontroll) és 1500 mg/kg Cu (kezelt) voltak a búza-búza szubsztitúciós sorozat, míg 0 (kontroll) és 1000 mg/kg Cu a búza-rozs szubsztitúciók esetében. A megfelelő rézkoncentrációkat az előkísérletek alapján választottuk ki.

A használt fitotronkamra típusa: Conviron PGV 56 (Controlled Environment LTD, Winnipeg Manitoba, Canada), nevelési körülmények a következők voltak: hőmérséklet (T): 18/15 °C éjszaka/nappal, fotoperiódus: 16/8-h (nappal 0-16 óra), relatív páratartalom (RH): 70/75 %, fényerősség: 220 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A kísérletet 4 párhuzamos ismétléssel, minden ismételében 5-5 növényrel végeztük el. A növényeket a csírázást követő 2 hetes korukig neveltük, ekkor lemértük a hajtáshosszakát és hajtás száraztömegeket.

3.5. 'Chinese Spring' 5A és 5D deléciós vonalak réztoleranciájának tesztelése és térképezése mikroszatellit markerekkel

3.5.1. Réztolerancia teszt

A vizsgálatokhoz a 2002-es évből származó 'Chinese Spring' 5A kromoszóma hosszú karjára deléciós vonalakat (7 vonal), valamint a 'Chinese Spring' 5D kromoszóma hosszú karjára deléciós vonalakat (3 vonal) használtuk, melyeket a Martonvásári Gabona Génbankban izoláltan tartottunk fenn (9. táblázat). A deléciós vonalak előállítását és nevezéktanát Endo és Gill (1996) írta le, az általunk használt vonalak homozigóta deléciós vonalak voltak. A deléciók hosszának jellemzésére az ún. Fraction Length-et (FL) használtuk, mely a deletált kar hosszának és a teljes kar hosszának a hányadosa (Endo és Gill, 1996). A deléciós vonalakkal együtt teszteltük a deléciót nem tartalmazó 'Chinese Spring'-et is.

9. táblázat. A réztolerancia tesztekhez felhasznált deléciós vonalak.

Deleciós vonal	Fraction Length (FL) (deléciós töréspont)
'Chinese Spring' 5A kromoszóma:	
5AL-23	0.87
5AL-20	0.82
5AL-17	0.78
5AL-6	0.68
5AL-15	0.67
5AL-8	0.64
5AL-10	0.56
'Chinese Spring' 5DL kromoszóma	
5DL-5	0.76
5DL-9	0.74
5DL-2	0.69

A növényeket üvegházban (IPK-Gatersleben, Németország) neveltük 0 (kontroll) és 1250 mg/kg réz-szulfátot tartalmazó talajon. A rézkezelés módja megegyezett a korábban leírtakkal

(3.2.1. fejezet). Minden genotípust külön edényben, edényenként 7 növényvel neveltünk. A kísérletet 3 párhuzamos ismétléssel végeztük el. A növénynevelő edények helyzetét naponta véletlenszerűen változtattuk. A növényeket a csírázást követő 2 hétig neveltük, 2 hetes korban lemértük a hajtáshosszakat és hajtásszáraztömegeket.

Az 5A deléciós vonalakkal a kísérletet megismételtük a Martonvásári Fitotron növénynevelő kamráiban is 1500 mg/kg réz-szulfátot tartalmazó talajon. A kísérlet beállítása és a nevelési körülmények azonosak voltak a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciók tesztelésénél alkalmazottal (3.4. fejezet).

3.5.2. Mikroszatellit (SSR) analízis

3.5.2.1. DNS izolálás a mikroszatellit analízishez

1.5 - 2 hetes csíranövény apróra vágott fiatal levelét 1.5 ml-es Eppendorf csőbe helyeztük, melyhez 200 µl frissen készített extrakciós puffert (100 mM Tris-HCl (pH 7.5), 500 mM NaCl, 50 mM EDTA, 1.25 % SDS, 0.38 % Na₂S₂O₅) adtunk. Homogenizálás után további 60 °C-os 500 µl extrakciós puffert adtunk a mintákhoz, majd ismételt óvatos homogenizálást követően 30 percig inkubáltuk 60 °C-os vízfürdőben. Ezt követően a fehérjék kicsapásához 700 µl kloroform-izoamil alkohol (24:1, V/V) elegyét adtuk hozzá, homogenizáltuk, majd centrifugáltuk 15 percig 10 000-es fordulaton. A felülúszót másik Eppendorfba pipettáztuk, és 1.4 ml -20 °C-os 96 %-os etanolt (EtOH) adtunk hozzá, mely a DNS-t kicsapta. Ezután 15 percig centrifugáztuk 10 000-es fordulaton. A centrifugálás után a felülúszót leöntöttük, a DNS csapadékot 1 ml 70 %-os -20 °C-os etanollal mostuk, majd ismét centrifugáztuk 5 percig, 10 000-es fordulaton. A centrifugálás után az etanolt leöntöttük, a csapadékot vákuum alatt szárítottuk, majd autoklávozott MilliQ vízben feloldottuk. A DNS mintákat -20 °C-on tároltuk. A mikroszatellit analízishez a DNS-t 50 ng/µl koncentrációjúra hígítottuk.

3.5.2.2. Az izolált DNS koncentrációjának meghatározása

Az izolált DNS minőségét és mennyiségét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. Az 1 %-os agaróz gélen futtatott DNS mennyiségét és minőségét etidium-bromiddal (Et-Br) festett agaróz gélen, DNS molekula tömeg standardek segítségével határoztuk meg.

3.5.2.3. Térképezéshez felhasznált mikroszatellit markerek

A búza mikroszatellit (WMS – *wheat microsatellite*) primer párokat Röder és mtsai. (1995) fejlesztették ki. A WMS primer párokból az egyik fluoreszcens anyaggal jelölt.

Mindegyik *gwm* (*gatersleben wheat microsatellite*) marker dinukleotid ismétlődést tartalmaz. Az 5A és 5D kromoszómák teszteléséhez az ezeken a kromoszómákon korábban már – más populáción - térképezett markereket választottuk (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés), melyeket a Függelék 8.8. és 8.9. táblázatában soroltunk fel. A kiválasztott marker primerek szekvenciája és az amplifikált fragmentek hossza az eredetileg térképezett populáción Röder és mtsai. (1998) által publikált eredményekből ismert.

3.5.2.4. Polimeráz láncreakció (PCR)

Az SSR analízist Röder és mtsai. (1995; 1998) és Devos és mtsai. (1995) írták le. A polimeráz láncreakciót 25 µl végtérfogattal végeztük el, melynek összetétele a következő volt:

5 µl	búza genomikus DNS (kb. 50-100 ng)
2.5 µl	10 x PCR puffer (1 M Tris-HCl, 1 M KCl, 1.5 mM MgCl ₂)
2 µl	dNTPs (0.2 mM mindegyik dezoxinukleotidból)
0.65 – 0.65 µl	L (bal) és R (jobb) primer (250 nM)
0.2 µl	<i>Taq</i> DNS polimeráz (1 unit)
14 µl	dd H ₂ O

Az analízishez GeneAmp PCR System 9600 (Perkin Elmer) és GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) PCR készülékeket használtuk. 3 perc 94 °C-ra történő melegítés után 45 ciklust futtatunk, melyek 1 perc 94 °C-os, 1 perc 50, 55 vagy 60 °C-os (primerpártól függően) és egy 2 perc 72 °C-os lépésből álltak. A 45 ciklust egy 10 perces 72 °C-os extenziós lépés követte. Az egyes primerpárokhoz tartozó primerkapcsolódási hőmérsékleteket Röder és mtsai. (1998) adatai alapján alkalmaztuk. A primerpárok egyik tagja fluoreszcensen (kék) jelölve volt, így az amplifikált termékeket fluoreszcens gerjesztő lézertfényrel az elektroforetikus szeparálás során detektálni lehetett.

3.5.2.5. Amplifikált fragmentek analízise

Az amplifikált fragmentek analízise poliakrilamid gélen Automated Laser Fluorescence DNS szekvenálóval történt (ALFexpress II, Amersham Pharmacia Biotech), rövid gél kazetta használatával. 0.3 mm vastag 24 % akrilamidot tartalmazó gél-t használtunk (ReproGel High Resolution, Amersham Pharmacia Biotech). UV fényrel (ReproSet, Amersham Pharmacia Biotech) történő polimerizálás után a gél-t 0.75 x TBE (Tris-bórsav-EDTA) oldatban futtatuk a következő beállításokkal: 850 V feszültség, 50 mA áramerősség, 50 W teljesítmény, 2 mW-os

lézer teljesítmény, és 0.84 s-os mintavételezés. Ugyanazt a gélt 4-5 alkalommal használtuk, két futtatás között a futtató oldattal mostuk ki a zsebeket. A fragmentek méretét ALFwin Fragment Analyser V1.02 (Amersham Pharmacia Biotech) számítógépes program felhasználásával határoztuk meg, belső (mintával együtt felvitt: 1 µl PCR termék + 3 µl standard) és külső (külön sorba felvitt, 5 µl) standardok segítségével. A külső standard 73, 122, 196 és 231 bp hosszúságú fragmenteket tartalmazott, míg a belső standard a vizsgálandó fragment várható hosszának függvényében 73, 196 vagy 73, 231 bp hosszúságú fragmenteket.

3.6. Búza-*Aegilops tauschii* introgressziós vonalak réztoleranciájának tesztelése

A vizsgálatokhoz az IPK-Gaterslebenben (Németország) kifejlesztett *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'Chinese Spring'-*Aegilops tauschii* introgressziós vonalakat használtuk (10. táblázat), melyeket Andreas Börner bocsátott a rendelkezésünkre. A vonalakban az introgressziók helyét mikroszatellit (SSR) markerekkel korábban már térképezték (Pestsova és mtsai., 2001).

10. táblázat. A réztolerancia vizsgálatokhoz felhasznált introgressziós vonalak

Genotípus/kód	A beépült <i>Ae. tauschii</i> kromoszóma szegmente az alábbi SSR markereket hordozzák (Pestsova és mtsai, 2001):
'Chinese Spring' (N)	
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-8	<i>Xgwm161</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-7	<i>Xgwm161</i> , <i>Xgwm1243</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-5	<i>Xgwm161</i> , <i>Xgwm1243</i> , <i>Xgwm2</i> , <i>Xgdm72</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-2a	<i>Xgwm2</i> , <i>Xgdm72</i> , <i>Xgdm8</i> , <i>Xgwm795</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-3	<i>Xgdm72</i> , <i>Xgdm8</i> , <i>Xgwm795</i> , <i>Xgwm664</i> , <i>Xgwm383</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-4.2	<i>Xgdm8</i> , <i>Xgwm795</i> , <i>Xgwm664</i> , <i>Xgwm383</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-4.1	<i>Xgdm8</i> , <i>Xgwm795</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-6a	<i>Xgwm664</i> , <i>Xgwm383</i>
CS/ <i>Ae. tauschii</i> CS 3D-1	<i>Xgwm3</i>

A növényeket üvegházban neveltük kontroll (0 mg/kg) és rézkezelt (1250 mg/kg Cu) talajon. A növényeket 3 ismétlésben, ismétlésenként 7 növényt tartalmazó edényekbe ültettük. 2 hetes korban lemértük a hajtáshosszakat és hajtás-száraztömegeket.

3.7. Az 'ITMI' búza térképezési populáció réztolerancia tesztelése és a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációk vizsgálata

Mivel a nagyfelbontású búza genetikai térképek készítése során az egyik fő limitáló tényező a búza genotípusok között megfigyelhető kismértékű polimorfizmus, ezért olyan térképezési populációkat hoztak létre, ahol az egyik szülő a búza donor fajainak a

keresztezéséből származik. Az egyik ilyen nemzetközi együttműködés keretében létrehozott populáció az 'Opata85' x 'W7984' ('Synthetic') szintetikus amfihexaploid keresztezéséből származik. Az 'Opata85' egy mexikói búzafajta, míg a 'W7984' a diploid *Aegilops tauschii* (DD genom) és az 'Altar84' durumbúza (AABB genom) hibridje. Ezt a populációt általánosan csak 'ITMI' (*International Triticeae Mapping Initiative*) populációnak nevezik, és a 90-es évek közepén a búza részletes RFLP térképét ezen a populáción térképezték (Nelson és mtsai., 1995a, b, c; Marino és mtsai., 1996), majd a 90-es évek végén az első búza mikroszatellit térképet is (Röder és mtsai., 1998). Napjainkig mintegy 800 RFLP és 600 SSR (mikroszatellit) markert térképeztek az 'ITMI' populáción (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés). Az 'ITMI' populációt kiterjedten használják agronómiai tulajdonságokat meghatározó, valamint különböző biotikus és abiotikus stresszekkel szembeni védekezésben szerepet játszó QTL-ek azonosítására (Börner és mtsai., 2002; Salem és mtsai., 2004; Lohwasser és mtsai., 2004). Az 'ITMI' populáción nem csak a réztolerancia vizsgálatokat, de a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat is meghatároztuk.

3.7.1. A rekombináns vonalak és a szülők réztoleranciájának tesztelése

A rendelkezésre álló 114 rekombináns vonalból 53 RIL-t (Függelék, 8.2. táblázat) választottunk ki, melyek a korábbi abiotikus stressztolerancia vizsgálatok során a szélsőséges (érzékeny, toleráns) fenotípusokat képviselték (Andreas Börner, 2003, személyes közlés). Ezeket a vonalakat teszteltük a 2 szülővel együtt üvegházban (IPK-Gatersleben, Németország), kontroll (0) és 1000 mg/kg réz-szulfátot tartalmazó talajon, a rézkezelést a korábban leírtak alapján végeztük el (3.2.1. fejezet). A kísérletet 3 párhuzamos ismétléssel, ismétlésenként 4-6 növényt vizsgálva végeztük el. A csírázás után 2 héttel meghatároztuk a hajtás száraztömegeket.

3.7.2. A hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációk meghatározása

Az elemtartalom vizsgálatokhoz a 42 vonalat választottunk ki az 53 tesztelt RIL-ből (Függelék, 8.2. táblázat, a listában vastagon szedve), valamint a szülőket is megvizsgáltuk. A 42 vonal azon genotípusokat reprezentálja, amelyeknél a hajtás száraztömegeknél megfigyelhető variabilitás a legkisebb volt az egyes ismétlések során (szelektív fenotipizálás). Az elaprított, kiszárított növényi mintákból 50-80 mg-t roncsoltunk el 1 ml analitikai tisztaságú cc. HNO₃-al, tefloncsövekben (teflonbomba), 170 °C-on 3 órán keresztül, nyomás alatt. A Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat atomabszorpciós spektrofotométerrel, lángatomizálással határoztuk meg. Az elemkoncentrációk átlagértékeit 3 ismétlésből,

ismétlésenként 4-6 növény homogenizált keverékéből határoztuk meg. Az elemtartalom értékeit mg/kg-ban (száraztömegre vonatkoztatva) adtuk meg. A teljes hajtás rézkoncentrációt ($\mu\text{g/növény}$) a hajtás Cu-koncentráció ($\text{mg/kg} = \mu\text{g/g}$) és hajtás tömeg (g/növény) szorzatából számítottuk ki. A Cu-kezelt és kontroll növények hajtásában mért Cu-koncentrációk hányadosát használtuk a növények Cu-akkumulálási képességének jellemzésére.

3.7.3. QTL analízis

A QTL analízis első lépéseként a fenotípusos adatok eloszlását vizsgáltuk meg a Statistica 6.0 szoftverrel (StatSoft. Inc., 2001). A QTL analízishez elsődlegesen a QTL Café programot (szerző: Seaton, G.) használtuk, mellyel a „single marker ANOVA” és az egyszerű intervallum térképezési módszert (intervallum térképezés regressziós módszerrel, Haley és Knott, 1992) alkalmaztuk. A QTL analízist a fenotípusos adatok átlagértékeivel végeztük el, melyeket 3 ismétlésből, ismétlésenként 4-6 növény átlagából határoztuk meg. A fenotípusos átlagértékekből kapott QTL-ek közül csak azokat fogadtuk el valódi QTL-ként, ahol az átlag érték felhasználásával kapott QTL-t a 3 független ismétlésből minimum kétszer az egyes ismétléseknél is azonos pozícióban, szignifikáns hatással megkaptuk. „Single marker ANOVA” tesztnél szignifikancia küszöbnek a $P \leq 0.05$ %-os szintet vettük, míg az egyszerű intervallum térképezésnél a likelihood ratio teszt 9.2-es értékét, ami $\text{LOD}=2.0$ értéknek felel meg (Haley és Knott, 1992).

Az így kapott QTL-eket leellenőriztük egy más megközelítést alkalmazó intervallum térképezési eljárással is (maximum likelihood módszer, Lander és Botstein, 1989) a MapQTL 5 szoftver felhasználásával (Van Ooijen, 2003).

3.8. 'Chinese Spring' 5A és 5B egy kromoszómára rekombináns (SCR) térképezési populációk réztoleranciájának tesztelése és térképezése mikroszatellit markerekkel

3.8.1. Réztolerancia teszt

Két, SCR-vonalakból álló térképezési populáció réztoleranciájának tesztelését végeztük el, melyeket az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetének Genetika Osztályán Sutka József vezetésével állítottak elő. Mindegyik populáció vonalait izoláltan tartottuk fent. A tesztelt populációk a következők voltak:

1. Az 5A kromoszómára rekombináns térképezési populáció: 'Chinese Spring (Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring (*T. spelta*5A)' keresztezésből származik (62 SCR vonal és a szülők,

Függelék, 8.3. táblázat).

2. Az 5B kromoszómára rekombináns térképezési populáció: 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring (Cheyenne5B)' keresztezésből származik (61 SCR vonal és a szülők, Függelék, 8.4. táblázat).

A növényeket üvegházban (IPK-Gatersleben, Németország) neveltük 0 (kontroll) és 1250 mg/kg réz-szulfátot tartalmazó talajon. A rézkezelés módja megegyezett a korábban leírtakkal (3.2.1. fejezet). Minden genotípust külön edényben neveltünk (7 növény/edény), a kísérletet 3 független ismétléssel végeztük el (átlag: 3 x 7 növény vizsgálata alapján). A növénynevelő edények helyzetét naponta véletlenszerűen változtattuk. A növényeket a csírázást követő 2 hétig neveltük, majd 2 hetes korban lemértük a hajtás száraztömegeket.

3.8.2. Mikroszatellit (SSR) analízis

A DNS izolálás menete és az izolált DNS koncentrációjának meghatározása megegyezett a korábban írtakkal (3.5.2.1. és 3.5.2.2. fejezet).

5A és 5B kromoszómák mikroszatellit térképének elkészítéséhez az 5A és 5B kromoszómán korábban már térképezett markerekhez tartozó primerpárokat választottuk ki Röder és mtsai. (1998) és Röder (2004) személyes közlése alapján. A kiválasztott markerek primer szekvenciája és az amplifikált fragmentek hossza az eredetileg térképezett populáción Röder és mtsai. (1998) által publikált, ill. Röder (2004) személyes közlése révén ismert. A szülői vonalak között polimorfizmust mutató markerek listája és a detektált fragmentek hossza a Függelék 8.10. '(CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)') és 8.12. ('CS' x 'CS(Ch5B)') táblázatában található meg.

A PCR reakció kivitelezése és az amplifikált fragmentek analízise megegyezik a deléciós vonalak analízisével leírtakkal (3.5.2.4. és 3.5.2.5. fejezetek).

3.8.3. Kapcsoltsági térkép elkészítése és QTL analízis

A kapcsoltsági térképek elkészítéséhez a MAPMAKER (Lander és mtsai., 1987) programot (5B kromoszóma), illetve a JoinMap 3.0 (Van Ooijen és Voorrips, 2001) programot (5A, 5B kromoszóma) használtuk, és a rekombinációs frekvenciákból a Kosambi térképfüggvény (Kosambi, 1944) segítségével számítottuk ki a térképtávolságokat centimorganban (cM).

A QTL analízis első lépéseként a fenotípusos adatok eloszlását vizsgáltuk meg. A normális eloszlástól való eltérés mértékét a Statistica 6.0 (Statsoft Inc., 2001) szoftver

segítségével számoltuk ki. A QTL analízist a fenotípusos adatok átlagértékeivel végeztük el, melyeket 3 ismétlésből, ismétlésenként 4-6 növény átlagából határoztuk meg. „Single marker ANOVA” tesztnél szignifikancia küszöbnek a $P \leq 0.05$ %-os szintet fogadtuk el. Az 5B kromoszómán kapott QTL-t leellenőriztük intervallum térképezéssel is (maximum likelihood módszer, Lander és Botstein, 1989) a MapQTL 5 szoftver felhasználásával (Van Ooijen, 2003).

3.9. A 'Chinese Spring' (toleráns) és 'Synthetic R93' (érzékeny) búzafajta agronómiai jellegeinek vizsgálata kontroll és 1500 mg/kg rézet tartalmazó talajon

Az előkísérletek alapján rézzel szemben toleránsnak talált 'Chinese Spring' és érzékeny 'Synthetic R93' búzafajták réztoleranciájának tesztelését elvégeztük üvegházban (IPK, Gatersleben, Németország). A magvakat Anderas Börner bocsátotta rendelkezésünkre. A növényeket érésig neveltük kontroll, és 1500 mg/kg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -t tartalmazó talajon, a rézkezelés módja megegyezett a korábban leírtakkal (3.2.1. fejezet). Éréskor 5-5 kontroll és rézkezelte növényen a következő paramétereket mértük: hajtáshossz, bokrosodás, kaláshossz, kalászkaszám, szemszám/kalász, szemtömeg/kalász, ezerszemsúly.

3.10. Statisztikai analízis

3.10.1. Variancia analízis

Az egyes átlagértékek közötti különbség szignifikanciájának meghatározásához variancia analízist használtunk (ANOVA), melyet az Excel program (Microsoft® Excel 2002) segítségével számoltunk ki.

3.10.2. Korreláció-analízis

A vizsgált paraméterek közötti korreláció számszerűsítésére a *Pearson*-féle korrelációs koefficiens használtuk, melyet az Excel program (Microsoft® Excel 2002) segítségével számoltunk ki. Az adott szignifikancia szintekhez tartozó korrelációs koefficiens értékeit a következő képlet segítségével határoztuk meg:

$$r = \frac{t}{\sqrt{t^2 + n - 2}}$$

ahol: r = korrelációs koefficiens, t = a megfelelő szabadsági fokokhoz (DG) és megbízhatósági szintekhez (α) tartozó t érték, n = mintaszám. A megfelelő t értékeket a *Biometrie* című könyvből (Piepho, 2003) kerestük ki.

3.10.3. Fenotípusos adatok eloszlásának vizsgálata

A fenotípusos eloszlás függvényt és az adatok eloszlásának normalitását khi-négyzet teszttel a Statistica 6.0 program (StatSoft. Inc, 2001) segítségével határoztuk meg.

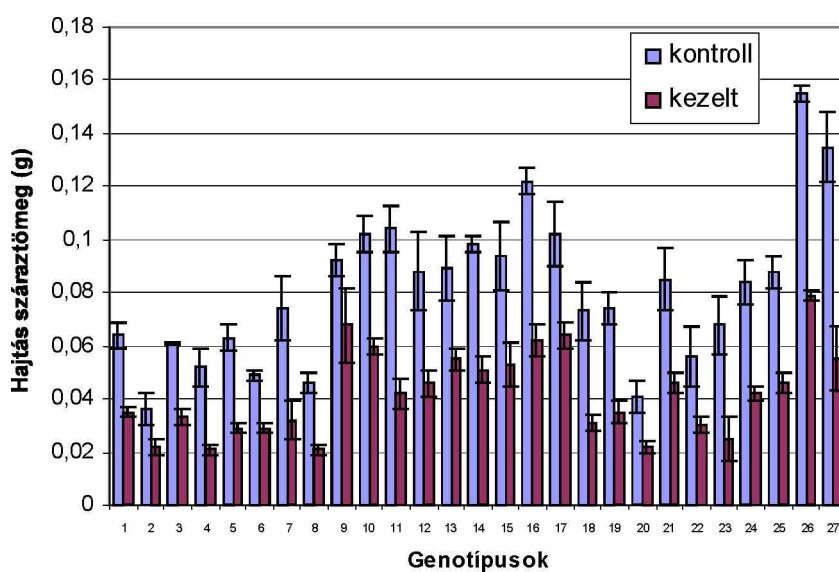
4. EREDMÉNYEK

4.1. Gabona genotípusok réztoleranciájának vizsgálata

A Martonvásári Gabona Génbankban tárolt búza és búzarokonfajok réztoleranciájának tesztelésével célunk Cu-toleráns és Cu-érzékeny vonalak azonosítása volt. 8 *Aegilops*, 16 *Triticum*, 2 *Secale* és egy tritikálé fajon végeztük el a vizsgálatokat (3.1.1. fejezet, 3. táblázat), kontrollként 10^{-7} M-os, rézkezelésként 10^{-4} M-os Cu^{2+} koncentrációt alkalmazva.

4.1.1. Szárazanyagprodukciónak kontroll és rézkezelt körülmények között

Már kontroll körülmények között is jelentősen eltérnek a fajok hajtás száraztömeg értékei (4. ábra). Így a vad *Aegilops* L. fajoknál észleltük a legkisebb értékeket, míg a legmagasabb értékek a rozs, tritikálé és a kultivált *Triticum* L. fajoknál voltak megfigyelhetők. Kiugróan magas értéket a *Triticum zhukovsky* fajnál (No. 26) figyeltünk meg. Rézkezelés hatására minden fajnál csökken a szárazanyagprodukciónak, a különbség az összes esetben szignifikáns. A csökkenés a kontroll értékek 37-74 %-ig terjedt.



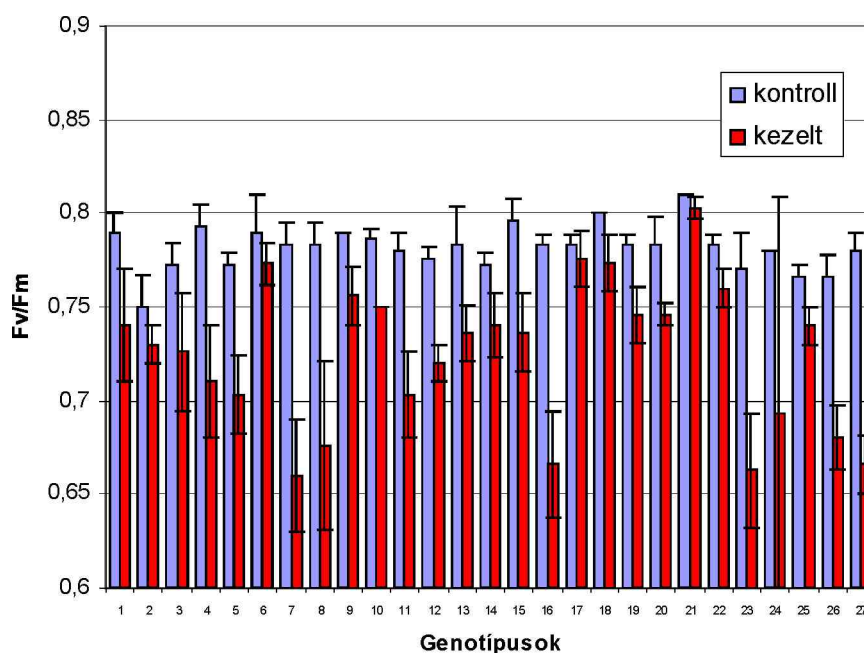
4. ábra. Hajtás száraztömeg értékek kontroll és rézkezelt (10^{-4} M Cu^{2+} koncentráció) gabonáknál 3 hetes korban, vízkultúrában. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

A fajok belüli variabilitás vizsgálata az ABD genomú *Triticum aestivum* L. fajnál megmutatta, hogy a száraztömeg értékek között kontroll körülmények között nincs különbség, egyedül az 'MV-8' fajtánál (No. 16) tapasztaltunk a többinél szignifikánsan magasabb értéket. A kezelés hatására jelentősen lecsökkennek az értékek, legkisebb a 'Bánkúti 1201' fajtánál

(No. 11), melynél szignifikánsan magasabbak a 'Chinese Spring' (No. 13) és 'MV-8' (No. 16) fajtáknál, illetve a *T. aestivum* ssp. *spelta* (No. 17) alfajnál kapott adatok. Az ABD genomú fajoknál megfigyelteknél jelentősen nagyobb intraspecifikus variabilitást tapasztaltunk az A genomú diploid *T. monococcum* ssp. *monococcum* genotípusoknál, mind a kontroll, mind a kezelt növényeknél kapott száraztömeg értékek tekintetében.

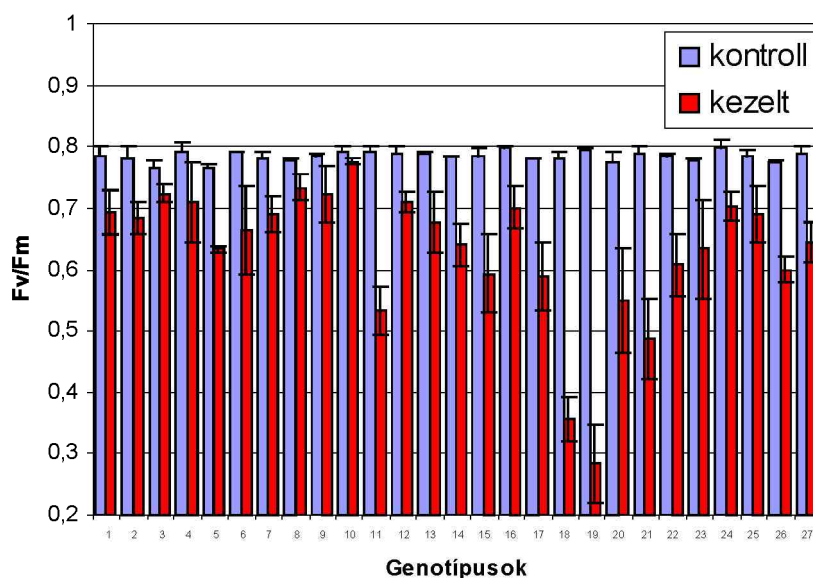
4.1.2. Fluoreszcencia indukció

A növények II. fotokémiai rendszerének (PSII) többlet réz által okozott működésbeli változását a PSII maximális kvantumhatásfokának meghatározásával állapítottuk meg, mely a sötétadaptált növény változó (F_v), és maximális (F_m) fluoreszcenciájának aránya (F_v/F_m) (Butler és Kitajima, 1975). A rézkezelt növények esetében az F_v/F_m értékek már 13 napon korábban csökkentek (5. ábra), mely a fotoszintetikus apparátus korai károsodására utal. A csökkenés a legtöbb fajnál hasonló mértékű volt – 5-10 % a kontrollhoz képest –, míg 4 genotípusnál nagyobb mértékű csökkenés volt megfigyelhető (*Ae. triuncialis* (No. 7), *T. aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'MV-8' (No. 16), *T. sinskajae* (No. 23), *Triticosecale* cv. 'Presto' (No. 27)), mely ezen fajták rézzel szembeni fokozott érzékenységét jelzi.



5. ábra. F_v/F_m értékek kontroll és rézkezelt (10^{-4} M Cu^{2+}) gabonafajoknál a 13. napon. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

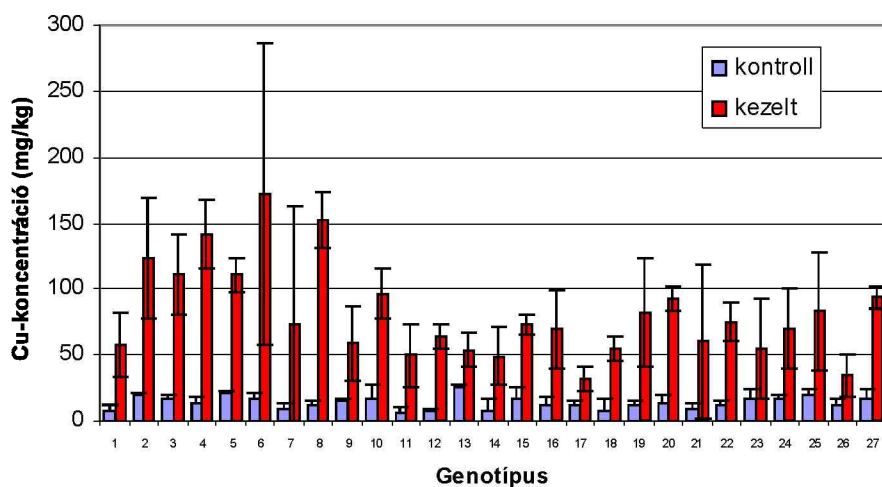
18 napos korban az F_v/F_m értékek csökkenése még kifejezettebb volt a rézkezelés hatására (6. ábra). 18 genotípusnál a csökkenés kb. 20 %-os volt a kontroll értékekhez képest, míg a többi vonalnál néhány esetben még az 50 %-ot is meghaladta.



6. ábra. F_v/F_m értékek kontroll és rézkezelt (10^{-4} M Cu^{2+}) gabonafajoknál a 18. napon. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

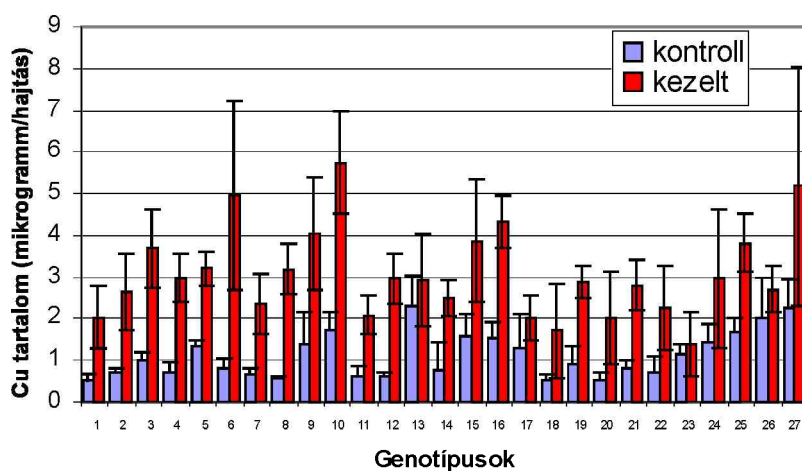
4.1.3. Hajtás Cu-koncentrációk

A rézkoncentrációk a rézkezelt növények hajtásában magasabbak voltak, mint a kontroll növényeknél (7. ábra). A kontroll növényeknél a rézkoncentrációk genotípustól függően 5.8 – 26.0 mg/kg között változtak, az átlagérték 14.0 mg/kg Cu volt. A rézkezelt növények hajtásában a Cu-koncentrációk 31.9 – 171.3 mg/kg között változtak, az átlag érték 81.2 mg/kg volt. Az *Aegilops* fajok hajtásában kimagaslóan nagy rézkoncentrációk figyelhetők meg rézkezelés hatására. A rézkezelt kenyérbúza fajták hajtás réztartalmai között nem volt szignifikáns különbség (49.2 – 73.0 mg/kg Cu).



7. ábra. Hajtás Cu-koncentrációk kontroll és rézkezelt (10^{-4} M Cu^{2+}) vízkultúrában nevelt gabonafajoknál 3 hetes korban. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

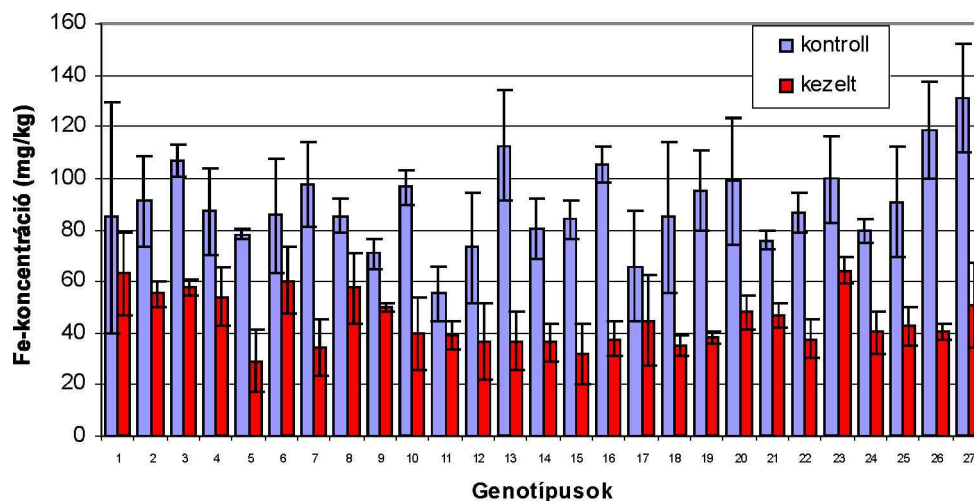
Az összes hajtás réztartalom – talajból eltávolítható réz mennyisége (8. ábra) – választ adhat arra, hogy mely faj lehet alkalmas a rézszennyezett talajok tisztítására. Rézkezelés hatására minden fajban megemelkedett az összes hajtás réztartalom, a legtöbb rezet a *Secale montanum* (No. 10) hajtása tartalmazza ($5.7 \mu\text{g}$), melyet a tritikálé 'Presto' (No. 27: $5.2 \mu\text{g}$), és az *Ae. tauschii* faj (No. 6: $5.0 \mu\text{g}$) követett. A hexaploid búzáknál a legtöbb rezet a cv. 'MV-8' (No. 16: $4.3 \mu\text{g}$), míg a legkevesebbet a 'Bánkúti1201' (No. 11: $2.1 \mu\text{g}$) és *T. aestivum* ssp. *spelta* var. *neglectum* (No. 17: $2.0 \mu\text{g}$) tartalmazza.



8. ábra. Összes hajtás réztartalom 3 hetes vízkultúrában nevelt kontroll és rézkezelt gabonafélék hajtásában. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

4.1.4. Hajtás Fe-koncentrációk

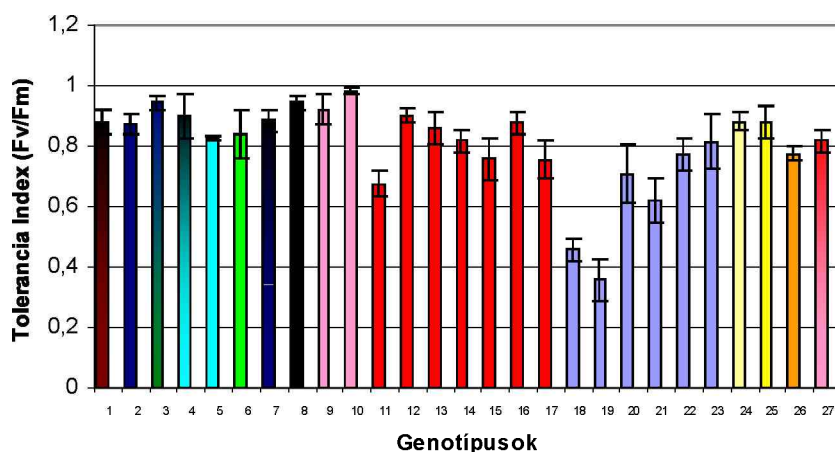
A hajtás vaskoncentrációk a rézkezelés hatására a legtöbb esetben szignifikánsan csökkentek (9. ábra), a kezelt növények hajtás vastartalmai a kontrollnál 32-74 %-al kisebbek voltak.



9. ábra. Hajtás Fe-koncentrációk kontroll és rézkezelt (10^{-4} M Cu^{2+}) vízkultúrában nevelt gabonafajoknál 3 hetes korban. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

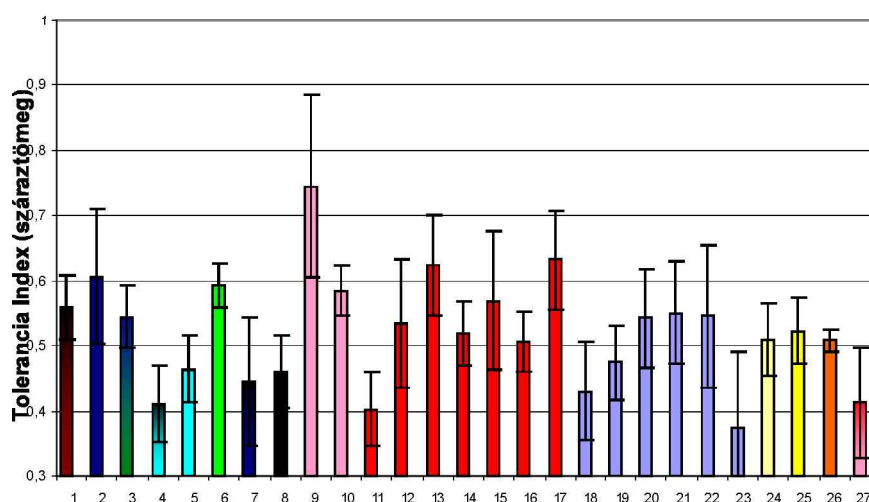
4.1.5. Réztolerancia

A 18 napos korban mért F_v/F_m értékekből számított tolerancia indexek (TI) alapján a legtoleránsabbnak a *Secale montanum* (No. 10: TI=0.983) mutatkozott (10. ábra), de a *Secale cereale* cv. 'Merkator' (No. 9) is kimagasló toleranciát mutatott (TI=0.923). Az *Aegilops* fajok között a legtoleránsabbak az *Ae. cylindrica* (No. 3: TI=0.943) és *Ae. umbellulata* (No. 8: TI=0.944) fajok voltak. A legérzékenyebb genotípusnak 2 alakor vonal (No. 18, 19) mutatkozott (TI=0.457, TI=0.357) és a 'Bánkúti 1201'-es kenyérbúza fajta (No. 11: TI=0.675).



10. ábra. Réztolerancia a 18. napon mért F_v/F_m értékek alapján. A különböző genotípusokat eltérő színek jelzik. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

A száraztömeg értékek alapján számított tolerancia indexek alapján a *Secale cereale* cv. 'Merkator' (No. 9: TI=0.743) mutatta a legnagyobb toleranciát rézzel szemben (11. ábra). Az *Aegilops* fajok között a legtoleránsabb az *Ae. biuncialis* (No. 1), *Ae. caudata* (No. 2), *Ae. cylindrica* (No. 3), és a hexaploid búza D genomjának donor faja, a diploid *Ae. tauschii* (No. 6) volt. A 6 vizsgálatba vont hexaploid búza genotípusból 5 réztoleranciája között nem volt szignifikáns különbség, egyedül a 'Bánkúti1201' fajta (No. 11) tűnt ki fokozottabb rézzel szembeni érzékenységgel. Az összes vizsgált faj közül a *Triticum sinskajae* (No. 23) volt a legérzékenyebb.



11. ábra. Réztolerancia a 3 hetes vízkultúrában nevelt gabonafajoknál. A különböző genotípusokat eltérő színek jelzik. Sorszámozás: 1-8: *Aegilops*, 9, 10: rozs, 11-17: ABD genomú búza, 18-23: A genomú búza, 24-26: egyéb *Triticum*, 27: tritikálé.

Az F_v/F_m és a száraztömeg adatok alapján számított Tolerancia Indexek összevetése alapján a rézzel szemben a legtoleránsabbnak a *Secale* (rozs) fajok mutatkoztak. Legérzékenyebbek a diploid A genomú genotípusok (*T. monococcum*, *T. sinskajae*) voltak, míg a hexaploid búzák közül a 'Bánkúti1201' fajta mutatkozott érzékenynek.

4.1.6. Korreláció a vizsgált paraméterek között

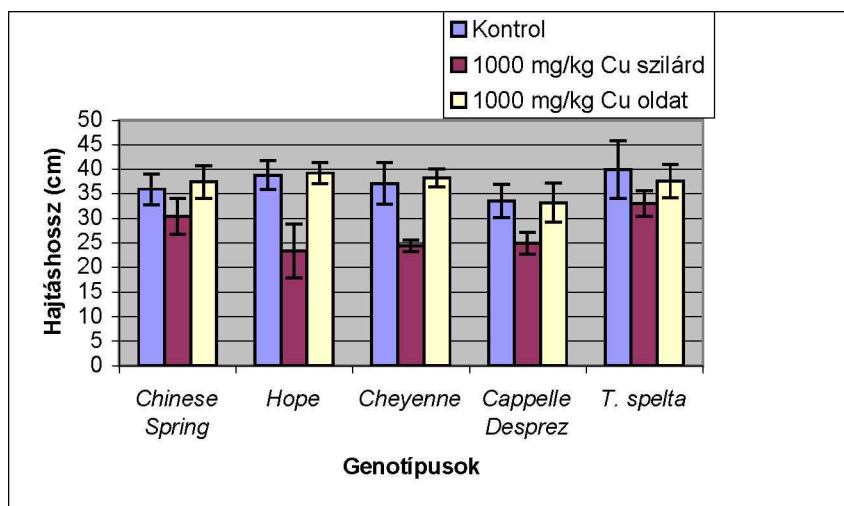
A vizsgált paraméterek közötti korrelációs együtthatók értékeit a Függelékben a 8.5. táblázat mutatja meg. A száraztömeg értékek alapján számított Tolerancia Indexek szoros korrelációt mutattak a kezelt növények száraztömeg értékeivel, és érdekes módon a 13 napos korban a kezelt növényeken mért F_v/F_m értékekkel.

A vizsgálatban szereplő 7 hexaploid ABD genomú búzára külön is meghatároztuk a korrelációs együtthatók értékeit (Függelék, 8.6. táblázat). Érdekes, hogy ebben az esetben a száraztömeg értékekből számított tolerancia indexek sem az F_v/F_m adatokból számított értékekkel, sem más paraméterekkel nem korrelálnak. A kontroll növények hajtás Cu-koncentrációi pozitív korrelációt mutatnak a Fe-koncentrációkkal, míg kezelés hatására negatív korreláció figyelhető meg közöttük.

4.2. Búza réztoleranciáért felelős gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása

4.2.1. Talajos tesztelési rendszer kidolgozása

Magas réztartalmú talajon termesztett búzák esetében a réz toxikus hatása már 60-125 mg/kg talaj Cu-koncentráción jelentkezett (Kabata-Pendias és Pendias, 1984), ezért a teszteléshez alkalmas rézkoncentráció kiválasztásához 0, 25, 125 és 375 mg/kg talajhoz adott Cu-hatását vizsgáltuk a *Triticum aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'GK-Öthalom' - korábbi vizsgálatok alapján érzékeny - és a *T. aestivum* ssp. *aestivum* cv. 'GK-Tiszatáj' - korábbi vizsgálatok alapján toleráns (Bálint, 1999) búzafajtákon. Sem a 'GK-Öthalom', sem a 'GK-Tiszatáj' esetében nem észleltük a többlet réz hajtás megnyúlást gátló hatását még a legnagyobb, 375 mg/kg-os rézkoncentráción sem. A következő lépésben ezért megemeltük a rézkoncentrációkat (1000 mg/kg Cu), valamint a rézkezelést kipróbáltuk oly módon is, hogy a rezet nem szilárd elporított formában, hanem oldatként a talajfelszínre permetezve juttattuk a talajba. A szilárd formában talajhoz kevert réz-szulfátnál a hajtáshosszak a kezelés hatására genotípustól függően eltérő mértékben lecsökkentek (12. ábra), míg az azonos mennyiségben, de oldat formájában talajba juttatott réz esetében nem észleltünk szignifikáns hatást.



12. ábra. Szilárd és oldott formában talajhoz adott $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hatása búzafajták és a tönköly hajtáshosszáinak alakulására

Az oldat formájában talajra permetezett réz azért maradhatott hatástalan, mivel a talajrészecskéken megkötődő réz már a talaj felső rétegében kiválhatott, így a lefelé növekvő gyökök ezt a számukra toxikus zónát elkerülhették. Ez a kísérlet ugyanakkor szemléletesen megmutatta, hogy a mezőgazdasági növényvédőszeresek által kialakított magas talaj Cu-tartalom önmagában még nem biztos, hogy Cu-toxicitáshoz vezet. Az ilyen területeken is toxikussá válhat azonban a réz, amit a Cu-ionok mélyebb rétegekbe – aktív gyökérzónába – való jutása (pl. szántás), vagy fokozott oldatba vitele (sok eső, savas eső, talaj pH megváltozása műtrágyázás következtében, stb.) idézhet elő.

A következő vizsgálatainkhoz így az 1000 mg/kg rézkoncentrációt alkalmaztuk, melyet szilárd, elporított formában egyenletesen kevertük a talajhoz, majd ezután még homogenizáltuk is. A talajhoz kevert réz 'Chinese Spring' búzafajtára gyakorolt hatását az 1. fotó szemlélteti.

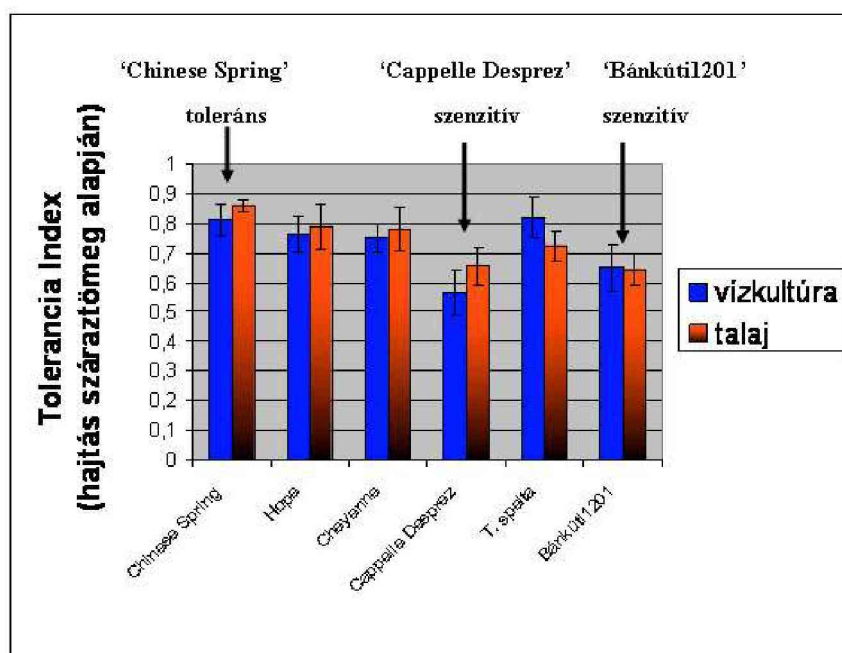


1. fotó. 1000 mg/kg talajhoz adott $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ hatása 11 napos 'Chinese Spring' búzanövények hajtáshosszáinak alakulására.

Későbbi vizsgálataink feltárták, hogy bizonyos esetekben ez a koncentráció sem elég nagy, mivel a nevelési körülmények, valamint a talaj összetétel változása módosíthatja a teszteléshez alkalmas rézkoncentrációt. A következő évek kísérletei során azt sikerült megállapítani, hogy a legtöbb esetben az 1250-1500 mg/kg réz-szulfát koncentráció a megfelelő, míg a 2000 mg/kg Cu már sok, mivel egyformán erősen toxikus a növényekre, így a toleranciabeli különbségek gyakran nem vizsgálhatók.

4.2.2. Szubsztitúciós sorozatok szülői vonalainak vizsgálata

A martonvásári intézetben rendelkezésre álló 4 szubsztitúciós sorozat szülői vonalainak tesztelésével folytattuk a vizsgálatokat (1. 'Chinese Spring'/'Hope', 2. 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez', 3. 'Chinese Spring'/'Cheyenne', 4. 'Chinese Spring'/'*T. aestivum* ssp. *spelta*'), melynek célja azon sorozat kiválasztása volt, amelynek szülői vonalai a legnagyobb fenotípusos különbséget mutatják a réztolerancia tekintetében. A kísérletbe a korábbi vizsgálatok során érzékenynek talált 'Bánkúti1201' fajtát is beállítottuk, mint negatív kontrollt (13. ábra).



13. ábra. Búzafajták és a *T. aestivum* ssp. *spelta* réztoleranciájának összehasonlítása vízkultúrában és talajos rendszerben. A réztoleranciát a kontroll és a rézkezelt növények hajtás száraztömeg értékeiből számítottuk ki. Vízkultúrában a kontroll Cu-koncentráció 10^{-7} M volt (optimálisnak tekinthető), míg a réztoxicitás kiváltásához 10^{-4} M-os Cu-koncentrációt alkalmaztunk. A talajos rendszer esetében a kontroll talajhoz nem adtunk réz-szulfátot, míg a réztoxicitás kiváltásához annyi rezet kevertünk a földhöz, hogy a hozzáadott réz koncentrációja 1000 mg/kg legyen a talajban.

A 13. ábra megmutatja, hogy a 'Chinese Spring' ('CS') mind a vízkultúrában, mind a talajos tesztelési rendszerben a legtoleránsabb genotípus volt, míg a másik szélsőséget a korábbi tesztekben már érzékenynek talált 'Bánkúti1201' valamint a 'Cappelle Desprez' ('CD') képviselte. A 'Hope' és 'Cheyenne' mérsékelten toleránsnak, a *T. aestivum* ssp. *spelta* vízkultúrában viszonylag toleránsnak, míg talajban viszonylag érzékenynek mutatkozott. A legnagyobb különbség a 'CS' és 'CD' között figyelhető meg, így további vizsgálatainkhoz ezeket a fajtákat használtuk.

4.2.3. A réztoleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat segítségével

A donor ('CD') és recipiens ('CS') genotípusok hajtáshossza kontroll körülmények között azonosnak tekinthető, rézkezelés hatására azonban szignifikánsan különböznek, a recipiens 'CS' toleránsabb a többlet rézzel szemben (11. táblázat). Az egyes kromoszóma szubsztitúciók vizsgálata alapján csak az 5B kromoszóma gyakorolt hatást a rézkezelt növények hajtáshosszára: a 'CD' 5B kromoszómája 'CS' háttérben csökkentette annak hajtáshosszát. A hajtáshossz adatokból kalkulált tolerancia indexek alapján a 2 szülői

vonall réztoleranciája szignifikánsan eltérő (11. táblázat). Az 5-ös homeológ csoport (5A, 5B, 5D) kromoszómái és a 7D kromoszóma a recipiens szülői vonall réztoleranciáját szignifikánsan csökkentették. A 6B kromoszómának ellentétes hatása volt, a recipiens szülői vonall réztoleranciáját megnövelte. Sem kontroll körülmények, sem a rézkezelés hatására nem volt szignifikáns különbség a 2 szülői vonall hajtás száraztömege között (11. táblázat). Kontroll körülmények között a 6A és 1B kromoszómák szignifikánsan növelték a recipiens szülői vonall hajtásának száraztömegét. A szülői vonalak száraztömeg értékek alapján számolt Cu-toleranciája szignifikánsan különbözött egymástól (11. táblázat). Az 5A, 6B, 3D, 5D és 7D kromoszómák szignifikáns hatást gyakoroltak a recipiens szülői vonall réztoleranciájára. Az 5A, 5D és 7D csökkentette, míg a 6B és 3D növelte a recipiens ('CS') réztoleranciáját.

11. táblázat. 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat genotípusainak hajtáshossz és száraztömeg adatai és a kalkulált Cu-tolerancia indexek kontroll és rézkezelt (1500 mg/kg CuSO₄) talajon nevelt növényeknél 2 héttel a csírázás után.

Genotípus	Kontroll Hajtáshossz (cm)	Kezelt hajtáshossz (cm)	Cu-tolerancia (hajtáshossz alapján)	Chinese Spring-nél mért érték %-ban	Kontroll száraztömeg (g)	Kezelt száraztömeg (g)	Cu-tolerancia (hajtás száraztömeg alapján)	Chinese Spring-nél mért érték %-ban
CS	37.0±1.9	30.9±2.6	0.84±0.07	100.0	0.0423±0.0039	0.0337±0.0071	0.80±0.13	100.0
CD	35.5±1.9NS	26.2±3.5 *	0.74±0.09**	88.1	0.0443±0.0043NS	0.0269±0.0082NS	0.61±0.14 **	76.3
CS/CD 1A	36.5±1.2NS	31.0±3.0NS	0.85±0.07NS	101.2	0.0467±0.0080NS	0.0345±0.0089NS	0.74±0.12NS	92.5
CS/CD 3A	36.3±3.2NS	32.2±2.1NS	0.89±0.08NS	106.0	0.0441±0.0065NS	0.0349±0.0070NS	0.79±0.14NS	98.8
CS/CD 4A	35.2±2.5NS	30.4±1.1NS	0.86±0.06NS	102.4	0.0453±0.0042NS	0.0359±0.0028NS	0.79±0.04NS	98.8
CS/CD 5A	37.3±2.2NS	27.7±3.1NS	0.74±0.07 **	88.1	0.0470±0.0065NS	0.0279±0.0099NS	0.59 ±0.12*	73.8
CS/CD 6A	39.9±0.7 *	31.7±2.7NS	0.79±0.06NS	94.0	0.0488±0.0031 *	0.0384±0.0063NS	0.79±0.10NS	98.8
CS/CD 7A	37.4±1.6NS	31.3±3.5NS	0.84±0.07NS	100.0	0.0453±0.0045NS	0.0347±0.0083NS	0.77±0.12NS	96.3
CS/CD 1B	38.2±2.3NS	33.7±1.4NS	0.88±0.06NS	104.8	0.0478±0.0011 *	0.0399±0.0079NS	0.83±0.13NS	103.8
CS/CD 3B	38.2±1.7NS	32.4±2.6NS	0.85±0.07NS	101.2	0.0431±0.0069NS	0.0321±0.0040NS	0.74±0.06NS	92.5
CS/CD 4B	37.6±0.4NS	31.9±1.4NS	0.85±0.03NS	101.2	0.0426±0.0037NS	0.0322±0.0029NS	0.76±0.06NS	95.0
CS/CD 5B	34.7±0.6NS	27.1±1.2*	0.78±0.03 *	92.9	0.0407±0.0014NS	0.0287±0.0040NS	0.71±0.07NS	88.8
CS/CD 6B	34.5±1.9NS	31.4±1.6NS	0.91±0.06 **	108.3	0.0399±0.0053NS	0.0369±0.0024NS	0.92 ±0.04*	115.0
CS/CD 7B	36.0±2.8NS	30.2±3.0NS	0.84±0.09NS	100.0	0.0444±0.0104NS	0.0341±0.0079NS	0.77±0.14NS	96.3
CS/CD 1D	37.3±1.9NS	30.1±4.1NS	0.81±0.10NS	96.4	0.0472±0.0067NS	0.0333±0.0060NS	0.71±0.11NS	88.8
CS/CD 2D	37.5±1.1NS	33.2±2.0NS	0.89±0.05NS	106.0	0.0441±0.0034NS	0.0362±0.0037NS	0.82±0.05NS	102.5
CS/CD 3D	38.1±1.8NS	33.5±1.9NS	0.88±0.06NS	104.8	0.0437±0.0074NS	0.0432±0.0035NS	0.99 ±0.05**	123.8
CS/CD 5D	37.4±1.5NS	28.4±3.8NS	0.76±0.09 *	90.5	0.0455±0.0050NS	0.0282±0.0075NS	0.62 ±0.12**	77.5
CS/CD 6D	38.5±1.9NS	32.7±3.4NS	0.85±0.08NS	101.2	0.0455±0.0056NS	0.0384±0.0084NS	0.85±0.15NS	106.3
CS/CD 7D	37.4±1.0NS	28.2±3.7NS	0.75±0.09 **	89.3	0.0439±0.0037NS	0.0254±0.0059NS	0.58±0.10 ***	72.5

Megjegyzések: A *, **, ***-al jelölt átlagok szignifikánsan különböznek a 'CS'-nél mért átlagtól $P \leq 0.05$, 0.01 illetve 0.001 %-os szinten, NS: nem szignifikáns. Az átlagértékeket 4 független ismétlés alapján számoltuk. A kék színnel kiemelt genotípusok Cu-toleranciája szignifikánsan különbözik a 'CS' Cu-toleranciájától. A CS/CD 2A, CS/CD 2B és CS/CD 4D szubsztitúciók nem szerepeltek a kísérletben.

A hajtáshosszak mind kontroll, mind rézkezelt körülmények között szoros korrelációt mutattak a hajtás száraztömegekkel (Függelék, 8.7. táblázat). Ezen felül a hajtáshosszakból kalkulált Cu-tolerancia adatok is szoros korrelációt mutattak a száraztömegadatokból kalkulált Cu-tolerancia adatokkal. A Cu-tolerancia adatok továbbá a rézkezelt körülmények közötti hajtáshossz és hajtásszáraztömeg-adatokkal is korrelációt mutattak.

4.2.4. Az 5A kromoszóma Cu-toleranciát befolyásoló szerepének megerősítése búza/rozs szubsztitúciók réztoleranciájának tesztelésével

A korábbi vizsgálataink (lásd 11. ábra) valamint irodalmi adatok (Manyowa és Miller, 1991) alapján a rozs (*Secale*) fajok toleránsabbak a rézzel szemben, mint a búza, ugyanakkor a genomok közötti közeli rokonság alapján feltételezhető, hogy a réztoleranciában szerepet játszó gének a homeológ kromoszómákon helyezkednek el. Mivel az 5A kromoszóma – illetve az 5-ös homeológ csoport - szerepe a többlet réz tolerálásban a szubsztitúciós analízis alapján egyértelműnek látszik, továbbá az 1-es homeológ csoport szerepére semmi nem utal, így leteszteltük a 'Saratovskaya29' búzafajta, illetve a 'Saratovskaya29'/rozs (5R/5A) és 'Saratovskaya29'/rozs (1R/1A) szubsztitúciók réztoleranciáját is (12. táblázat). Megállapítottuk, hogy a búza 1A kromoszóma cseréje a rozs 1R kromoszómájával nem változtatja meg a recipiens búza vonal réztoleranciáját, míg az 5A kromoszóma cseréje a rozs 5R kromoszómájával megnöveli a réztoleranciát. Mindez az 5A kromoszóma réztoleranciában betöltött szerepét erősíti meg.

12. táblázat. Búza és búza/rozs szubsztitúciók réztoleranciája a csírázást követő 14. napon.

Genotípus	Cu-tolerancia (hajtás száraztömeg alapján)	'Saratovskaya 29'-nél mért érték %-ban kifejezve
'Saratovskaya29' búzafajta	0.71 ± 0.02	100.0
'Saratovskaya29'/'Vietnamskaya' 5R(5A) búza/rozs szubsztitúció	0.91 ± 0.13 **	128.2
'Saratovskaya29'/'Vietnamskaya' 1R(1A) búza/rozs szubsztitúció	0.71 ± 0.04 NS	100.0

Az átlagokat és a szórásokat 4 független ismételten alapján határoztuk meg. **: szignifikánsan különbözik a Cu-tolerancia értéke a 'Saratovskaya29' búzafajta Cu-toleranciájától $P \leq 0.01$ %-os szinten, NS: nem szignifikáns.

4.3. A búza réztoleranciért felelős gének fizikai térképezése 'Chinese Spring' 5A és 5D deléciós vonalak felhasználásával

4.3.1. 5A deléciók vizsgálata

4.3.1.1. A deléciós vonalak térképezése mikroszatellit (SSR) markerekkel

A vizsgálatok célja olyan SSR markerek keresése volt, melyek lefedik az 5A kromoszóma hosszú karját, és az egyes deléciós vonalak azonosítására alkalmasak. Az 5A deléciós vonalak teszteléséhez olyan markereket használtunk, melyeket az 'ITMI' búza térképezési populáción illetve nulli-tetraszómás vonalak segítségével korábban az 5A kromoszómán már térképeztek (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés). Sajnos a 11 vizsgált marker nem alkalmas a deléciók elkülönítésére, mivel szinte kizárólag vagy az összes deléciós töréspont és teloméra között (egyik deléciós vonalban sem, csak a 'CS'-ben detektálható), vagy a deléciós töréspontok után (mindegyik deléciós vonalban és a 'CS'-ben is detektálható) helyezkedik el. A marker analízis részletes eredményét a Függelékben a 8.8. táblázat mutatja meg.

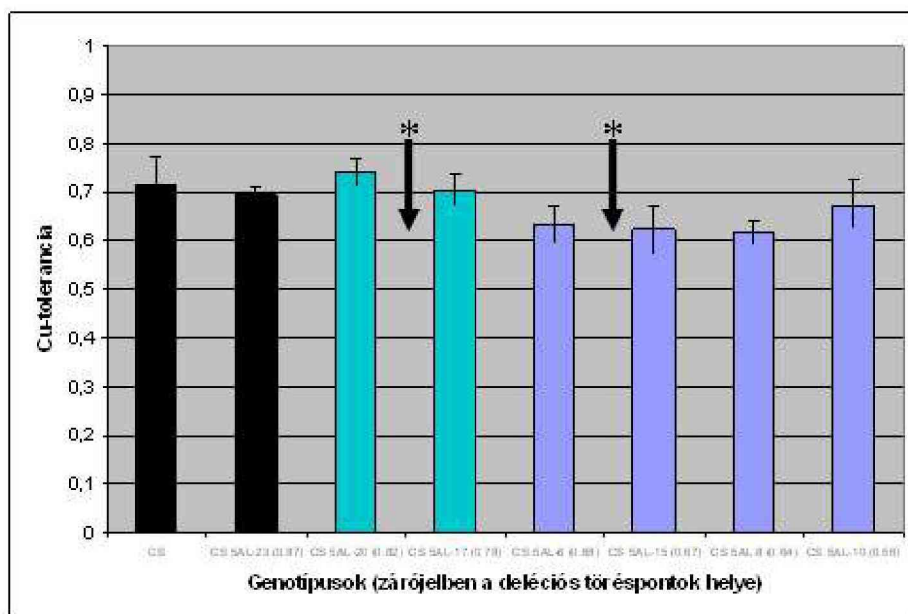
Egyetlen markert találtunk - *Xgwm982* -, mely a két leghosszabb deléciós vonalban (5AL-23, 5AL-20) még megvolt, azonban a további deléciós vonalokból már hiányzik. Ez a marker alkalmas 1 deléciós töréspont azonosítására. A térképezett markerek így 3 részre osztják az 5A kromoszómát: 1. a deléciós töréspontok előtt, az 5A kromoszóma hosszú karjának telomérához közeli részén térképezett markerek csoportja (*Xgwm126*, *Xgwm410*, *Xgwm865*, *Xgwm995*), 2. deléciókra eső *Xgwm982* marker, 3. a deléciós töréspontok után, az 5A kromoszóma hosszú karjának centroméra felé eső részén, illetve a rövid karon elhelyezkedő markerek csoportja (*Xgwm154*, *Xgwm156*, *Xgwm186*, *Xgwm1171*, *Xgwm1205*, *Xgwm1236*). A marker csoportok sorrendje megfelel a korábbi genetikai térképek alapján elvárt elhelyezkedésnek (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés), azaz pl. a deléciós töréspontok előtt térképezett markerek a korábbi térképeken is az 5A kromoszóma hosszú karjának telomerikus végén helyezkednek el. Az egyes csoportokon belül azonban a markerek sorrendjét nem lehet megállapítani, erre csak az 'ITMI' populáción térképezett markerek sorrendje (Röder és mtsai., 1998), illetve a búza konszenzus mikroszatellit térkép (Somers és mtsai., 2004) adhat támpontot.

Az általunk is tesztelt *Xgwm865* és *Xgwm1205* markereket nulli-tetraszómás vonalakkal térképezték az 5A kromoszómán (Röder, 2004, személyes közlés), így a kromoszómán belüli pozíciójuk eddig nem volt ismert. A deléciós analízis alapján az *Xgwm865* marker a deléciós töréspontok előtt, az 5A kromoszóma hosszú karjának teloméra

felé eső részén, míg az *Xgwm1205* marker a deléciós töréspontok után, az 5A kromoszóma hosszú karjának centroméra felé eső részén, illetve a rövid karon helyezkedik el.

4.3.1.2. Az 5A deléciós vonalak és a 'Chinese Spring' Cu-toleranciájának tesztelése

Két helyen is megfigyeltünk a deléciós vonalak réztoleranciája között kicsi, de szignifikáns különbséget (14. ábra). Az első hatást a 0.87 és 0.82 töréspontok között, míg a másodikat a 0.78 és 0.68-as töréspontok között detektáltuk. Ez alapján feltételezhető, hogy az 5A kromoszóma hosszú karján több olyan gén is elhelyezkedik, mely a Cu-toleranciát befolyásolja. Természetesen a legkisebb deléciós vonal után is lehetnek még Cu-toleranciát befolyásoló régiók, azonban ezeket az általunk vizsgált vonalakkal nem lehet térképezni.

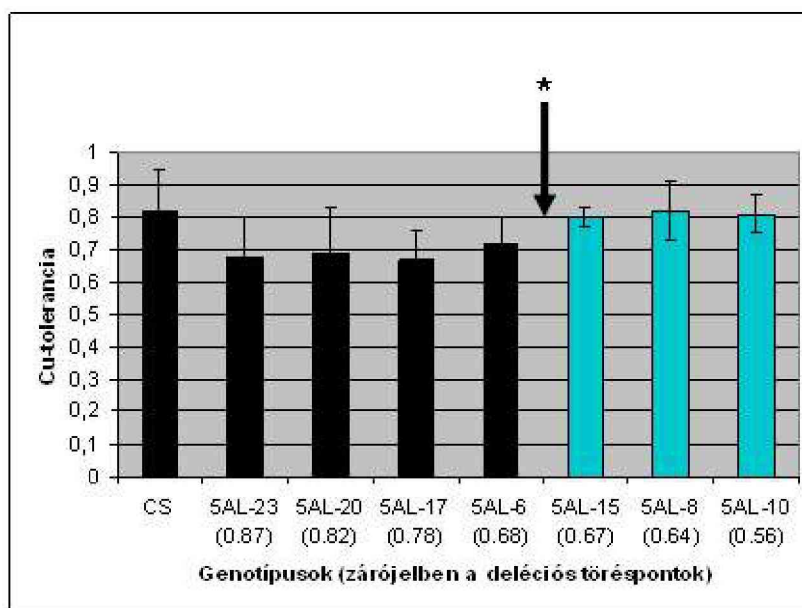


14. ábra. 'Chinese Spring' és CS-5AL kromoszóma hosszú karjára deletált vonalak réztoleranciája 2 hetes korban, 1250 mg/kg talajhoz adott réz hatására. Az adott deléciós vonalak közötti szignifikáns különbséget nyíl jelzi. * : szignifikáns különbség $P \leq 0.05$ %-os szinten.

Az *Xgwm982* mikroszatellit markert a 0.82 és 0.78 töréspontok közé térképeztük, így a közelség miatt elképzelhető, hogy ez a marker kapcsolatosan öröklődik a közelben lévő Cu-toleranciát befolyásoló génekkel.

Mivel csak nagyon kis különbséget észleltünk a deléciós vonalak réztoleranciája között, ezért megismételtük megnövelt rézkoncentrációval (1500 mg/kg Cu a talajban) a kísérletet abból a célból, hogy a réztoleranciát befolyásoló régiót nagyobb megbízhatósággal határozhassuk meg. A nagyobb rézkoncentráción hasonló szignifikancia szinttel, de más

deléciók között figyeltünk meg szignifikáns hatást (15. ábra).



15. ábra. 'Chinese Spring' és CS-5AL kromoszóma hosszú karjára deletált vonalak réztoleranciája 2 hetes korban, 1500 mg/kg talajhoz adott réz hatására. Az adott deléciós vonalak közötti szignifikáns különbséget nyíl jelzi. * : szignifikáns különbség $P \leq 0.05$ %-os szinten.

A Cu-toleranciára hatást gyakorló régió szomszédos volt az 1250 mg/kg-os rézkezelés esetében meghatározott régióval (0.68 és 0.67-es deléciós töréspontok között). E területen feltételezhetően több gén ill. szabályozó régió is elhelyezkedik, melyek az általános stressztoleranciában szerepet játszhatnak, és Cu-toleranciára gyakorolt hatásukat már a környezet kismértékű megváltozása is módosíthatja. Az 5A kromoszóma deléciós vonalaival elvégzett vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy az 5A kromoszóma deléciókkal vizsgálható szakaszán a Cu-toleranciára csak kis hatást gyakorló gén (ek) helyezkednek el a 'CS' fajtában.

4.3.2. 5D deléciók vizsgálata

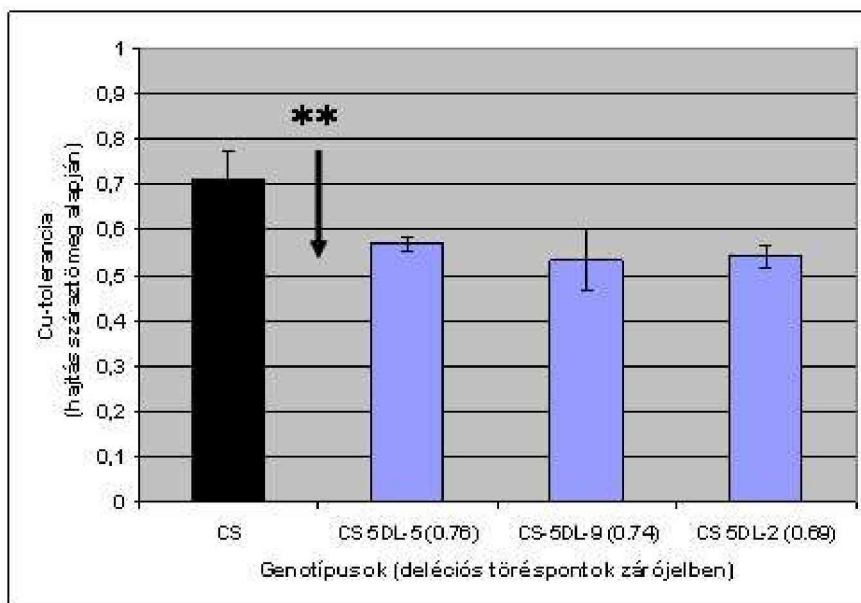
4.3.2.1. A deléciós vonalak térképezése mikroszatellit (SSR) markerekkel

Ebben az esetben is csak egy markert találtunk - *Xgwm182* -, mely a két leghosszabb deléciós vonalban (5DL-5, 5DL-9) még megvolt, azonban az 5DL-2-es delécióból már hiányzik, így ez a marker egy deléciós töréspont azonosítására alkalmas (Függelék, 8.9. táblázat). A térképezett markerek 3 részre osztják az 5D kromoszómát: 1. a deléciós töréspontok előtt, az 5D kromoszóma hosszú karjának teloméra felé eső részén elhelyezkedő markerek (*Xgwm212*, *Xgwm565*, *Xgwm805*, *Xgwm902*, *Xgwm931*), 2. a deléciókra eső

Xgwm182 marker, 3. A deléciós töréspontok után, az 5D kromoszóma hosszú karjának centroméra felé eső részén, vagy a rövid karon elhelyezkedő markerek (*Xgwm190*, *Xgwm205*, *Xgwm292*, *Xgwm358*, *Xgwm583*, *Xgwm639*, *Xgwm960*, *Xgwm1039*, *Xgwm1226*, *Xgwm1252*). A marker csoportok sorrendje megfelel a korábbi térképek alapján elvárt sorrendnek (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés). Az *Xgwm1226* marker kromoszómán belüli elhelyezkedéséről nem állt eddig rendelkezésre információ, mivel nulli-tetraszómás vonalakkal térképezték (Röder, 2004, személyes közlés). A deléciós térképezés alapján ez a marker a deléciós töréspontok után, az 5D kromoszóma hosszú karjának centroméra felé eső részén, vagy a rövid karon helyezkedik el.

4.3.2.2. Az 5DL deléciós vonalak és a 'Chinese Spring' Cu-toleranciájának tesztelése

Már a legkisebb deléciót hordozó vonal (CS 5DL-5) esetében jelentősen lecsökken a réztolerancia a 'CS'-hez képest (16. ábra). A többi vonal réztoleranciája már nem változik, így ezen eredmények alapján a teloméra és az első deléciós töréspont (0.76) között helyezkedhet el egy réztoleranciát befolyásoló régió. Természetesen a legkisebb deléciós töréspont után (5DL-2-es vonal deléciós töréspontjától proximális helyzetben) is lehetnek még Cu-toleranciát befolyásoló régiók, illetve az első deléciós töréspont előtt több gén is elhelyezkedhet, azonban ezeket az általunk használt genetikai anyagokkal nem lehet térképezni.

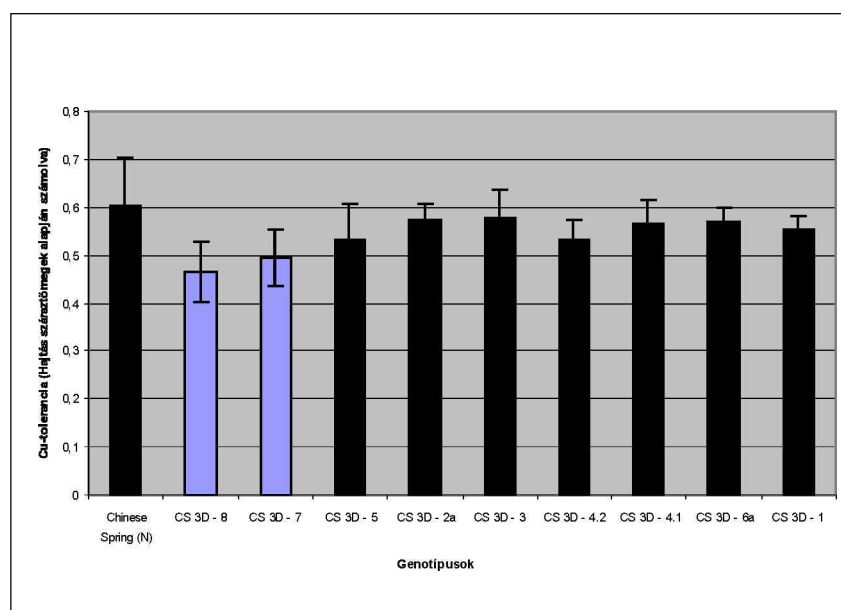


16. ábra. 'Chinese Spring' és CS-5DL kromoszóma hosszú karjára deletált vonalak réztoleranciája 2 hetes korban, 1250 mg/kg talajhoz adott réz hatására. Az adott deléciós vonalak közötti szignifikáns különbséget nyíl jelzi. ** : szignifikáns különbség $P \leq 0.01$ %-os szinten.

4.4. Réztoleranciát befolyásoló lókuszok térképezése introgressziós vonalak és térképezési populációk felhasználásával

4.4.1. Réztolerancia térképezése introgressziós vonalak segítségével a 3D kromoszómán

A gaterslebeni intézetben elvégeztük a 'Chinese Spring'-*Aegilops tauschii* introgressziós (közel izogénikus) vonalak vizsgálatát is. A 17. ábrán azon 'CS' közel izogénikus vonalak tesztjének eredménye látható, melyek a 3D kromoszómán tartalmaztak *Ae. tauschii*-ből származó kromoszómaszegmenteket.



17. ábra. 'Chinese Spring' és 'Chinese Spring' – *Aegilops tauschii* (DD genom) 3D kromoszómára introgressziós vonalak réztoleranciája 2 hetes korban, 1250 mg/kg talajhoz adott réz hatására. A kék oszloppal jelölt introgressziós vonalak réztoleranciája $P \leq 0.05$ %-os szinten különbözik a 'CS' Cu-toleranciájától.

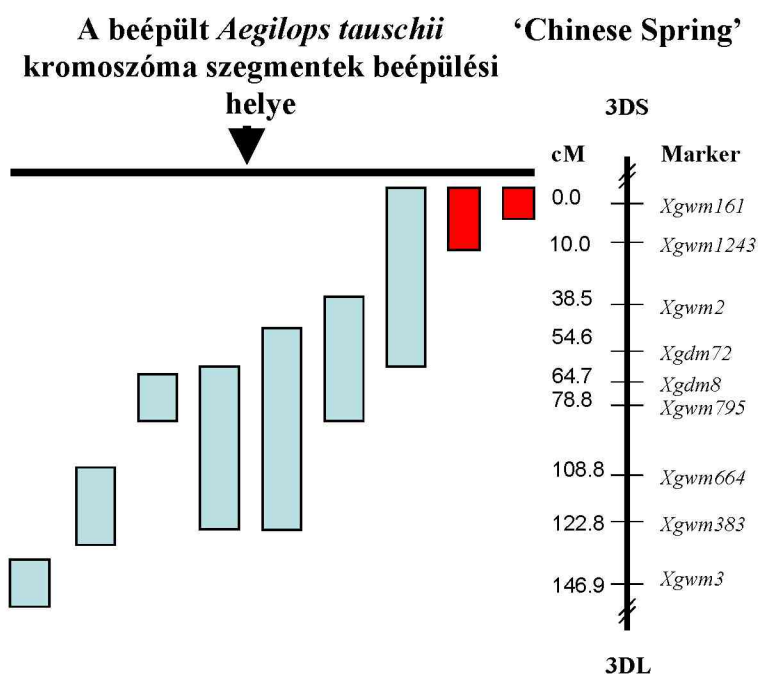
A 3D-8 és 3D-7 vonalak réztoleranciája szignifikánsan különbözött a 'CS' Cu-toleranciájától. Mivel az egyes vonalakban a beépült *Ae. tauschii* kromoszóma szegmentek beépülési helye mikroszatellit markerekkel térképezett (3.6. fejezet, 10. táblázat), így nem csak az egyes szegmentek kromoszómán belüli helyzetét, de egy adott tulajdonság markerhez való kapcsoltágát is meg lehet határozni. Ehhez marker szerint képzett csoportokat hoztunk létre, majd a csoportokon végzett egyszerű variancia analízis segítségével megállapítottuk, hogy van-e szignifikáns különbség a Cu-toleranciában, ha az adott marker pozíciójában a 'CS' vagy *Ae. tauschii*-ből származó allélok vannak (13. táblázat).

13. táblázat. Cu-tolerancia térképezése a búza 3D kromoszómán. Marker szerint csoportokon végzett egyszerű variancia analízis eredménye a 'Chinese Spring'- *Aegilops tauschii* 3D kromoszómán közel izogénikus vonalak Cu-tolerancia tesztelése során.

Marker	F-érték	kritikus F-érték
<i>Xgwm161</i>	15.06784 ** CS	5.59146
<i>Xgwm1243</i>	1.232058 NS	5.59146
<i>Xgwm2</i>	0.27595 NS	5.59146
<i>Xgdm72</i>	1.488081 NS	5.59146
<i>Xgdm8</i>	2.924456 NS	5.59146
<i>Xgwm795</i>	2.924456 NS	5.59146
<i>Xgwm664</i>	1.0574 NS	5.59146
<i>Xgwm383</i>	1.0574 NS	5.59146
<i>Xgwm3</i>	0.103659 NS	5.59146

Jelölések: **: az adott markerpozícióban a 'CS' ill. *Ae. tauschii*-ből származó allélt tartalmazó vonalak Cu-toleranciája $P \leq 0.01$ %-os szinten különbözik. NS: a különbség nem szignifikáns. CS: a tolerancia jelleg a 'CS'-ből származik.

Az egyszerű variancia analízis alapján a *Xgwm161*-es markernél találtunk szignifikáns, Cu-toleranciát befolyásoló hatást (13. táblázat). A toleráns allél a 'CS'-ből származott, így ebben az esetben is – mint a korábbi vizsgálataink során is – a 'CS' volt a toleráns genotípus. Az *Xgwm161*-es marker a 3D kromoszóma rövid karján helyezkedik el (18. ábra.).



18. ábra. Réztoleranciát befolyásoló kromoszóma-régió térképezése a búza 3D kromoszómáján közel izogénikus vonalak segítségével. A piros színnel jelölt szegmenteinek beépülése szignifikáns hatással bír a 'Chinese Spring' Cu-toleranciájára.

4.4.2. 'CS (*T. spelta* 5A)' x 'CS (Cheyenne 5A)' egy kromoszómára rekombináns (SCR) búza térképezési populáció réztoleranciájának vizsgálata

4.4.2.1. Az 5A kromoszóma térképezése mikroszatellit markerekkel

Az 'ITMI' búza térképezési populáción és nulli-tetraszómás (NT) vonalakon korábban az 5A kromoszómán már térképezett (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés) markereket teszteltük le a szülőkön, melyekből a polimorfakat az SCR vonalakon is analizáltuk (Függelék, 8.10. táblázat).

A legtöbb marker esetében hosszpolimorfizmust figyelhetünk meg, míg néhány esetben egyes genotípusoknál van, másoknál egyáltalán nincs amplifikált termék. Az *Xgwm995*-ös markernél a 'CS' és 'Ch' genotípusoknál több amplifikált fragmentet is megfigyeltünk.

Az SCR vonalak genotipizálása érdekes eredményt hozott, ugyanis az adott markerpozíciókban elvárt 2 allél helyett – vagy 'Ch 5A', vagy 'Tsp 5A' típusú fragment –, néhány esetben 3 allélt is megfigyeltünk. A 'Ch 5A' és 'Tsp 5A' mellett ugyanis a 'CS 5A'-ból származó markereket is detektáltuk (Függelék, 8.11. táblázat). A vonalak mind homozigóták voltak, minden esetben csak egyik szülőre jellemző markert találtuk meg az SCR vonalakban. A vizsgált 17 markerből 8-nál mind a 3 szülői típusra jellemző fragmentet megfigyeltük (Függelék, 8.11. táblázat). A 'CS 5A' szegmenteit hordozhatták már eleve a szubsztitúciók, ezt azonban a szülők markeranalízisének ismeretében el kell vetni. Másik lehetőség az egy kromoszómára rekombináns vonalak előállítási sémájában keresendő (2.7.3. fejezet, 3. ábra). A rekombinánsok előállítása során ugyanis az F₁ nemzedéket visszakeresztezzük a 'CSmono5A'-val. Ebben a lépésben a később kiválogatásra kerülő 42 kromoszómás egyedekben rögzülhetnek 'CS 5A' kromoszóma szegmentei, melynek ismeretében a 'CS 5A' allélok felbukkanása szinte törvényszerűnek nevezhető. Sajnos ezáltal ezt a 8 markert nem lehet felhasználni genetikai térkép készítésére.

A maradék 9 markerből 3-nál az alléleloszlás nagyon távol van az elvárható 50-50 %-ostól, így mindössze 6 marker marad, melyek genetikai térkép készítésére felhasználhatók lennének (*Xgwm126*, *Xgwm156*, *Xgwm304*, *Xgwm639*, *Xgwm865*, *Xgwm982*). További probléma azonban, hogy ezeknél a markereknél sem lehet egyértelműen kijelenteni, hogy valóban csak két szülőtől származó allélokat tartalmaznak, ugyanis ebben az esetben a 'CS'-nél detektálható fragmentek azonosak voltak vagy a 'Ch' vagy a 'Tsp' fragmentjével. Így hiába tudjuk, hogy pl. az *Xgwm126* marker esetében 29 SCR vonal 'Ch' típusú, és 33 'Tsp' típusú (Függelék, 8.11. táblázat), ugyanis a 'CS' ugyanazt a fragmentet adja, mint a 'Ch'

(Függelék, 8.10. táblázat). Tehát a 29 SCR vonalnál vizsgált markerből egyesek lehetnek 'CS' eredetűek, míg mások 'Ch' eredetűek – azonban ezek számát megmondani nem lehet. A rekombinációs gyakoriságra azonban ezek után már nem tudunk megbízhatóan következtetni, így ezt a populációt a kapcsoltsági térkép készítésére nem tudjuk felhasználni.

Mindezek ellenére 6 markerrel megkíséreltük meghatározni a térképtávolságokat a JoinMap 3.0 program segítségével. Már LOD = 2-es szignifikancia küszöbnél 3 különböző kapcsoltsági csoportba térképeződtek a markerek (1: *Xgwm156*, *Xgwm304*, *Xgwm639*; 2: *Xgwm126*, *Xgwm865*; 3: *Xgwm982*), melyek közül az első csoport kapcsoltsága még LOD = 6.0 szinten is szignifikáns volt. Hasonló eredményt kaptunk a Mapmaker/Exp ver3.0b software alkalmazásával is, a markerek sorrendje (*Xgwm304*-*Xgwm156*-*Xgwm639*) azonos volt, de a térképtávolságok különböztek. (14. táblázat).

14. Táblázat. Markerpárok közötti térképtávolságok a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' populációnál

Marker párok:	JoinMap 3.0	Mapmaker/Exp ver3.0b
<i>Xgwm304</i> - <i>Xgwm156</i>	10.3 cM	19.4 cM
<i>Xgwm156</i> - <i>Xgwm639</i>	11.3 cM	20.7 cM

A markerek sorrendjéről így az egyedüli információt az 5A deléciók segítségével fizikailag térképezett markerek és a korábbi mikroszatellit térképek (Röder és mtsai., 1998), illetve konszenzus térképek alapján következtethetünk. A fentiek miatt a Cu-tolerancia intervallum térképezése sem lehetséges – ehhez térképinformációra van szükség -, azonban marker szerint képzett csoportokon végzett egyszerű variancia analízis elvégezhető (*single marker ANOVA*), mely ugyan a legegyszerűbb biometria eljárás, de nagyszámú marker esetében jó esély van a vizsgált jelleggel kapcsolt marker meghatározására.

4.4.2.2. A fenotípusos adatok értékelése

A hajtás száraztömeg értékek kezelés hatására genotípustól függő mértékben lecsökkentek mind a szülőknél, mind az SCR vonalaknál (15. táblázat). A szülők száraztömeg értékei sem kontroll, sem rézkezelt körülmények között nem különböztek szignifikánsan egymástól, azonban az SCR vonalak között rézkezelés hatására már jelentős szignifikáns különbség mutatkozott.

15. táblázat. A fenotípusos adatok leíró statisztikája és a varianciaanalízis eredménye

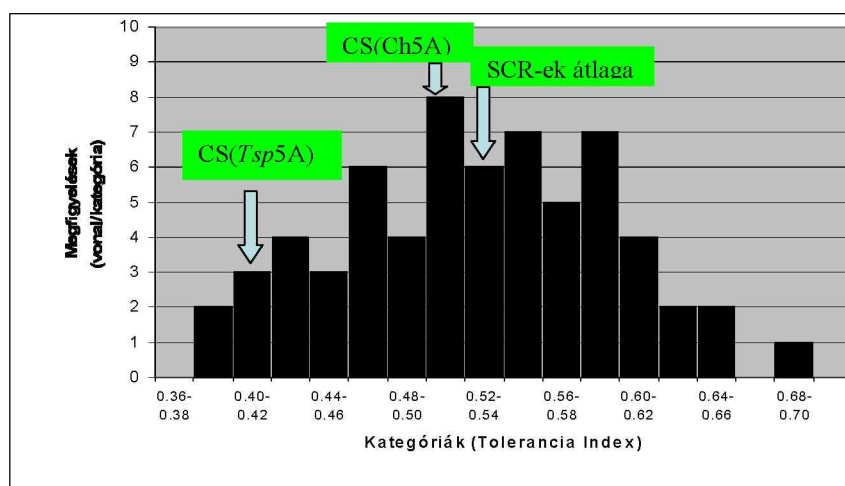
Vizsgált jelleg	A fenotípusos adatok eloszlásának normalitását jelző F-érték az SCRL-eknél ¹	A szülők fenotípusa			Az SCR vonalak fenotípusa				
		CS (Ch5A)	CS (Tsp5A)	A szülők fenotípusa közötti különbség ²	Tesztelt SCRL-ek száma	Átlag érték	Minimum érték	Maximum érték	Az SCR-ek fenotípusa közötti különbség ²
Hajtás száraztömeg, kontroll (g)	6.13687 NS	0.0806 ±0.0173	0.0884 ±0.0102	NS	62	0.0828	0.0704	0.0971	NS
Hajtás száraztömeg Cu-kezelt (g)	2.26686 NS	0.0415 ±0.0012	0.0369 ±0.0076	NS	62	0.0437	0.0288	0.0551	***
Cu-tolerancia (Tolerancia Index)	2.45202 NS	0.52 ±0.09	0.42 ±0.08	*	62	0.53	0.39	0.69	***

*, ** és ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 és 0.001 %os szinten, NS=nem szignifikáns.

¹ Az SCR vonalak fenotípusos adat-eloszlásának összehasonlítása a normál eloszlással. A khi-négyzet teszthez tartozó F-érték. Nem szignifikáns kapcsolat esetén a fenotípusos adatok eloszlása normál eloszlásnak tekinthető.

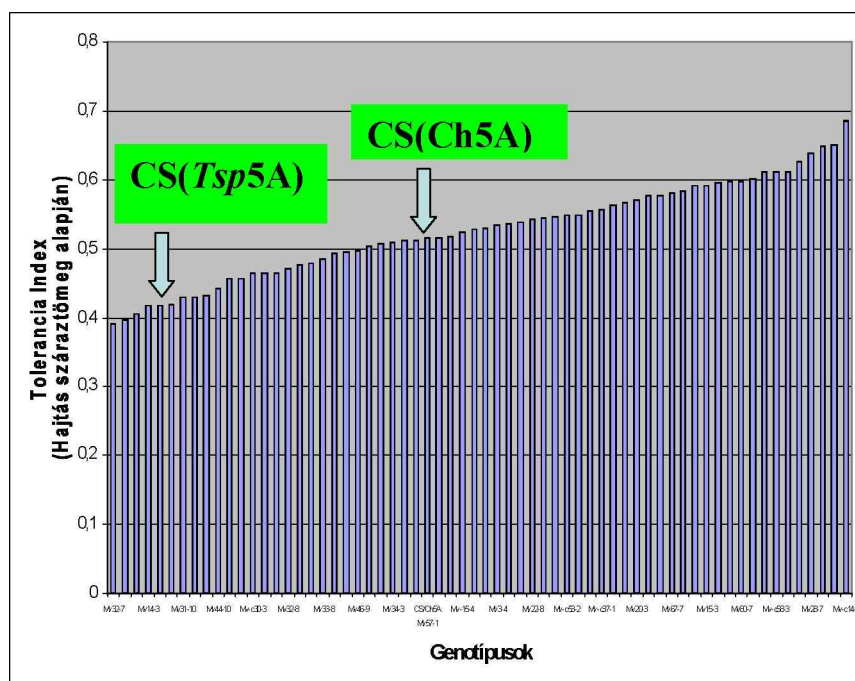
² ANOVA-teszt alapján.

A szülők Cu-toleranciája jelentősen különbözött: 'CS(Tsp5A)' érzékenyebbnek mutatkozott, toleranciája a legérzékenyebb vonalakéhoz állt közel (15. táblázat, 19. ábra), míg a 'CS(Ch5A)' toleranciája a SCRL-ek átlagával közel megegyező volt. A szülői formakénál toleránsabb SCR-ek jelenlétére a korábban már említett 'CS 5A' szegmentek felbukkanása adhat magyarázatot. A korábbi vizsgálataink alapján a 'CS' szignifikánsan toleránsabb volt a *T. spelta*-nál, míg a 'Ch' toleranciája a 'CS' és 'Tsp' toleranciája között helyezkedhet el – ezt a jelenlegi vizsgálat is megerősítette. A markerek és a tolerancia karakter vizsgálata során így várhatóan a 'CS 5A'-ból származó Cu-toleranciát befolyásoló allélek járulnak hozzá leginkább a toleranciához, míg a 'Tsp 5A' allélek várhatóan csak a legérzékenyebb fenotípusú vonalakban található meg.



19. ábra. A réztolerancia adatok gyakorisági eloszlása a 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring(T. spelta5A)' búza térképezési populáció SCR vonalainál.

A Cu-tolerancia adatok eloszlása nem különbözik szignifikánsan a normális eloszlástól (15. táblázat, 19. ábra), illetve a fenotípusos adatok eloszlásfüggvénye is a folytonos eloszlást mutatja, diszkrét különbség a SCR-ek fenotípusában nem figyelhető meg (20. ábra).



20. ábra. A fenotípusos adatok növekvő érték szerinti eloszlása a 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring(*T.spelta*5A)' búza térképezési populáció Cu-toleranciájának tesztelése során.

4.4.2.3. A Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA módszerrel

A vizsgált 17 markerből 8-nál találtunk a Cu-toleranciát befolyásoló szignifikáns hatást (16. táblázat). Statisztikailag a legmegbízhatóbb hatást az *Xgwm1236*, *Xgwm1205* és *Xgwm982* markerek esetében tapasztaltuk. A korábbi vizsgálatokat megerősítve, a tolerancia karakter főleg a 'CS'-ből származott, a 'Ch' allélok a 'CS'-nél érzékenyebbek, de a *T. spelta*-ból származó alléloknál toleránsabbnak mutatkoztak.

16. táblázat. Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA analízissel a 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring(*T. spelta*5A)' populáció rekombináns beltenyésztett vonalain.

No	Marker	F-érték Ch- <i>Tsp</i>	F-érték Cs- <i>Tsp</i>	F-érték Cs-Ch
1.	<i>Xgwm126</i>	6.881479 * Ch	-	-
2.	<i>Xgwm154</i>	0.532979 NS	2.911064 NS	0.524889 NS
3.	<i>Xgwm156</i>	1.646463 NS	-	-
4.	<i>Xgwm186</i>	1.712483 NS	4.846202 * CS	1.125121 NS
5.	<i>Xgwm205</i>	1.109052 NS	-	-
6.	<i>Xgwm241</i>	0.114252 NS	5.569781 * CS	2.653438 NS
7.	<i>Xgwm293</i>	0.415169 NS	0.428109 NS	1.251269 NS
8.	<i>Xgwm304</i>	0.065283 NS	-	-
9.	<i>Xgwm410</i>	1.350311 NS	2.771643 NS	0.005849 NS
10.	<i>Xgwm617</i>	1.406064 NS	4.821245 * CS	1.968913 NS
11.	<i>Xgwm639</i>	5.236056 * Ch	-	-
12.	<i>Xgwm865</i>	3.044086 NS	-	-
13.	<i>Xgwm982</i>	7.798133 ** Ch	-	-
14.	<i>Xgwm995</i>	1.812918 NS	1.851789 NS	0.480985 NS
15.	<i>Xgwm1171</i>	0.087994 NS	-	-
16.	<i>Xgwm1205</i>	7.138295 ** Ch	-	-
17.	<i>Xgwm1236</i>	7.1717 ** Ch	8.16257 ** CS	1.541708 NS

Jelölések: *, **: a megfelelő allélokat tartalmazó vonalak Cu-toleranciája szignifikánsan különbözik egymástól $P \leq 0.05$ ill. 0.01 %-os szinten. CS, Ch: a tolerancia karakter (allél) a 'Chinese Spring'-ből ill., 'Cheyenne'-ből származik, NS: nem szignifikáns.

4.4.3. 'CS' x 'CS(Cheyenne 5B)' egy kromoszómára rekombináns (SCR) búza térképezési populáció

4.4.3.1. Az 5B kromoszóma térképezése mikroszatellit markerekkel

Ezt a populációt 9 mikroszatellit (SSR) ill. RFLP markerrel már térképezték korábban (Tóth és mtsai., 2003), de az 5B kromoszómán más populáción ('ITMI' populáció, illetve nulli-tetraszómás vonalak, Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés) korábban már térképezett SSR markerek tesztelésével sikerült még 14 polimorfizmust mutató markert meghatározni (Függelék, 8.12. táblázat). Ennél a populációnál is – az 5A-hoz hasonlóan – főként hosszpolimorfizmust figyeltünk meg, azonban néhány esetben az egyik genotípusnál detektálható fragment – legalábbis az általunk vizsgált fragmenthossz tartományban (kb 75-350 bp) - nem volt megfigyelhető.

A vizsgálatba vont polimorf markerek alapján a vonalak egy marker kivételével (*Xgwm756*) homozigóták a legtöbb vizsgált allélre (Függelék, 8.13. táblázat). Az *Xgwm756*-os marker heterozigóta jellegét 2 vonalban figyeltük meg. A korábban ezen a populáción térképezett mikroszatellit markerek esetében nem figyeltek meg heterozigóta alléleket (Tóth, 2004, személyes közlés).

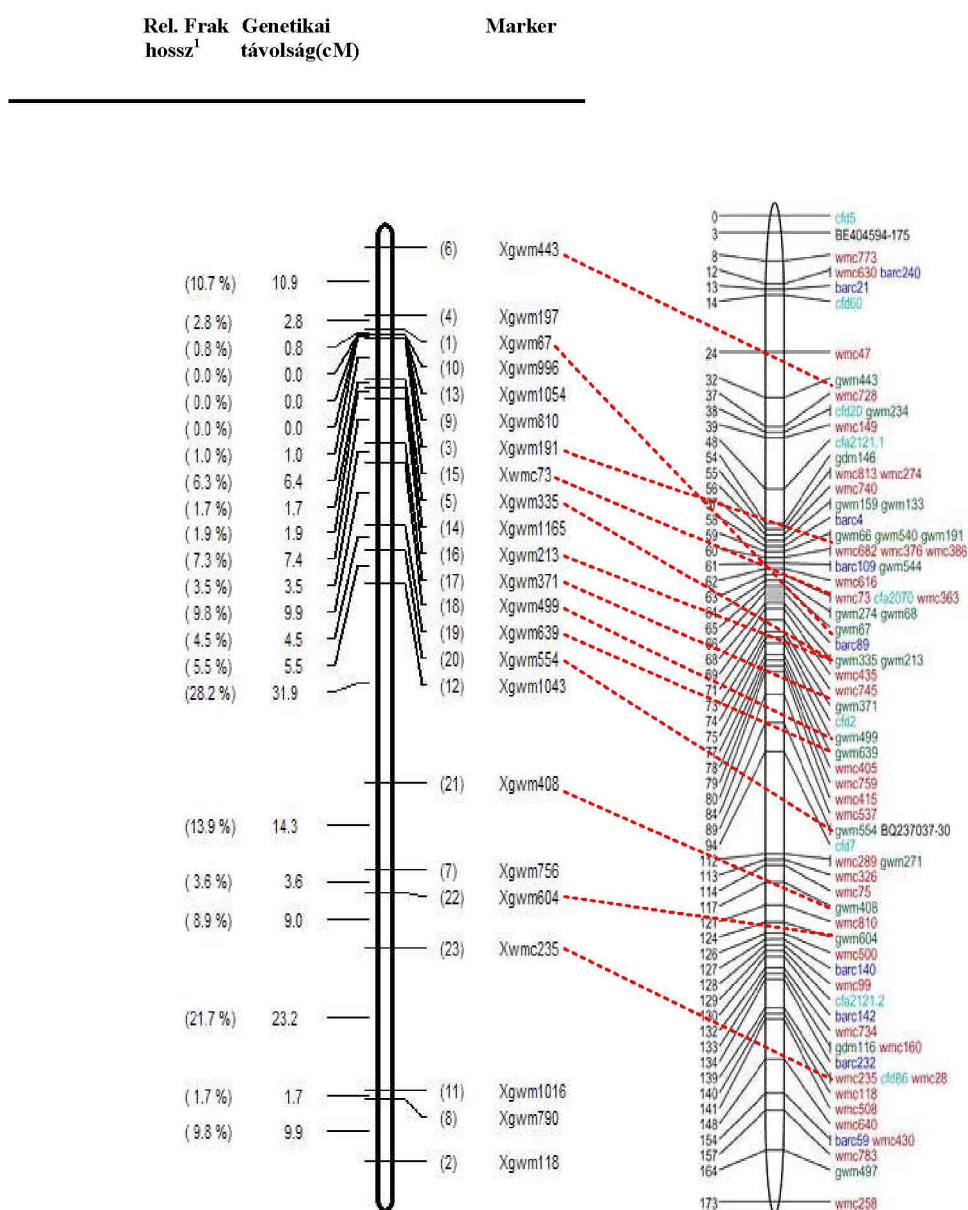
4.4.3.2. Az 5B kromoszóma genetikai térképe

A MAPMAKER (Lander és mtsai., 1987) program segítségével elkészített genetikai térkép 23 RFLP és SSR markert tartalmaz, a kromoszóma hossza 149.945 cM (21. ábra). A 23 markerből 4 azonos helyre térképeződött (*Xgwm996*, *Xgwm1054*, *Xgwm810*, *Xgwm191*), így az általunk használt populáció elkülönítésükre nem alkalmas. Ezt a 4 markert egy markernek számolva a markerek közötti átlagos távolság $149.945/20 = 7.50$ cM.

A markerek sorrendje jól megfeleltethető a Röder és mtsai. (1998) által publikált búza 5B kromoszóma mikroszatellit térképének, melyet az 'Opata85' x 'Synthetic' ('ITMI') búza térképezési populáción térképeztek. Az általunk készített térkép a legújabb nagy sűrűségű búza mikroszatellit konszenzus térképpel (Somers és mtsai., 2004) is jó egyezést mutat (21. ábra).

A centroméra Röder és mtsai. (1998) térképén az általunk is térképezett *Xgwm335* marker közvetlen közelében helyezkedett el, Somers és mtsai. (2004) szintén ebbe a régióba pozícionálták (21. ábra). A centromérikus régió közvetlen környezetében a markerek kluszttereket alkotnak – a proximális régióban ugyanis általában kisebb a rekombinációs gyakoriság, mint a kromoszómakarok disztális részein.

A hosszú karon két nagyobb „rés” is található a genetikai térképen: az egyik a *Xgwm1043* és *Xgwm408* (31.9 cM), a másik pedig ettől disztális irányban az *Xwmc235* és *Xgwm1016* markerek között (23.2 cM). Mindkét „rés” megtalálható a korábbi (Röder és mtsai., 1998), és az újabb konszenzus térképen is (Somers és mtsai., 2004).



21. Ábra. Mikroszatellit markerek elhelyezkedése az általunk térképezett populáció 5B kromoszómáján és a búza konszenzus térképén. A közös markereket piros szaggatott vonal köti össze.

Baloldalt: 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' populáción térképezett markerek. *Jobboldalt:* Somers és mtsai. (2004) által készített nagy sűrűségű konszenzus mikroszatellit búza térkép.

¹ Relatív frakció hossz: a 2 marker közötti távolság a teljes hossz %-ban kifejezve.

4.4.3.3. A fenotípusos adatok értékelése

A hajtás száraztömeg értékek kezelés hatására genotípustól függő mértékben lecsökkentek mind a szülőknél, mind az SCR vonalaknál (17. táblázat). A szülők száraztömeg értékei rezkezelte körülmények között szignifikánsan különböztek egymástól. Az SCR vonalaknál rezkezelés hatására szintén jelentős szignifikáns különbség volt megfigyelhető az egyes vonalak között.

17. táblázat. A fenotípusos adatok leíró statisztikája és a varianciavizsgálat eredménye

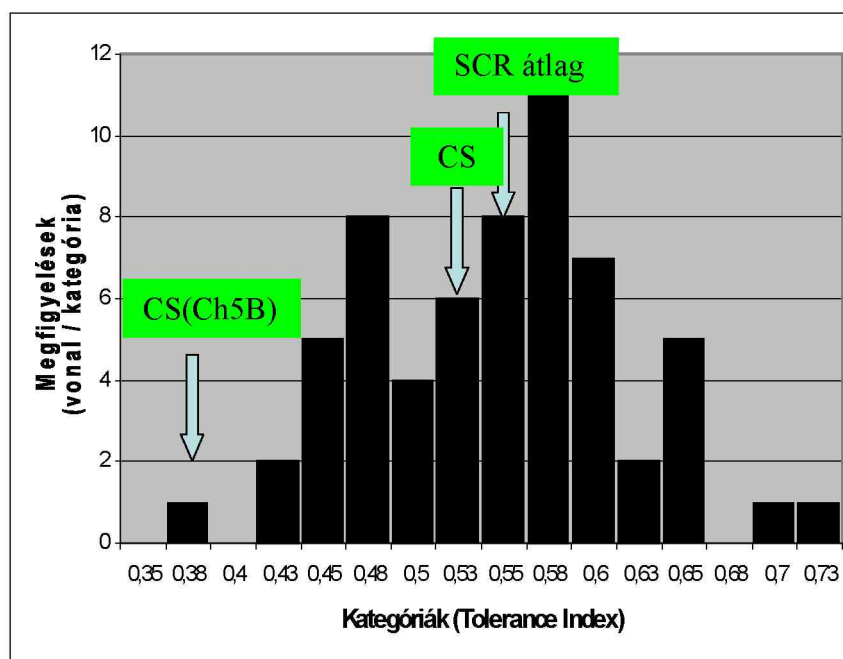
Vizsgált jelleg	A fenotípusos adatok eloszlásának normalitását jelző F-érték az SCR-eknél ¹	A szülők fenotípusa			Az SCR-ek fenotípusa				
		CS	CS (Ch5B)	A szülők fenotípusa közötti különbség ²	Tesztelt SCR-ek száma	Átlag érték	Minimum érték	Maximum érték	Az SCR-ek fenotípusa közötti különbség ²
Hajtás száraztömeg, kontroll (g)	3.84865 NS	0.0917 ± 0.0161	0.0844 ± 0.0048	NS	61	0.0910	0.0601	0.1055	NS
Hajtás száraztömeg Cu-kezelte (g)	6.58896 NS	0.0470 ± 0.0025	0.0314 ± 0.0083	*	61	0.0501	0.0313	0.0599	***
Cu-tolerancia (Tolerancia Index)	3.58497 NS	0.54 ± 0.10	0.37 ± 0.07	***	61	0.56	0.40	0.75	***

* és ***: szignifikáns $P \leq 0.05$ és 0.001 % szinten, NS=nem szignifikáns.

¹ Az SCR vonalak fenotípusos adat-eloszlásának összehasonlítása a normál eloszlással. A khi-négyzet teszthez tartozó F-érték. Nem szignifikáns kapcsolat esetén a fenotípusos adatok eloszlása normál eloszlásnak tekinthető.

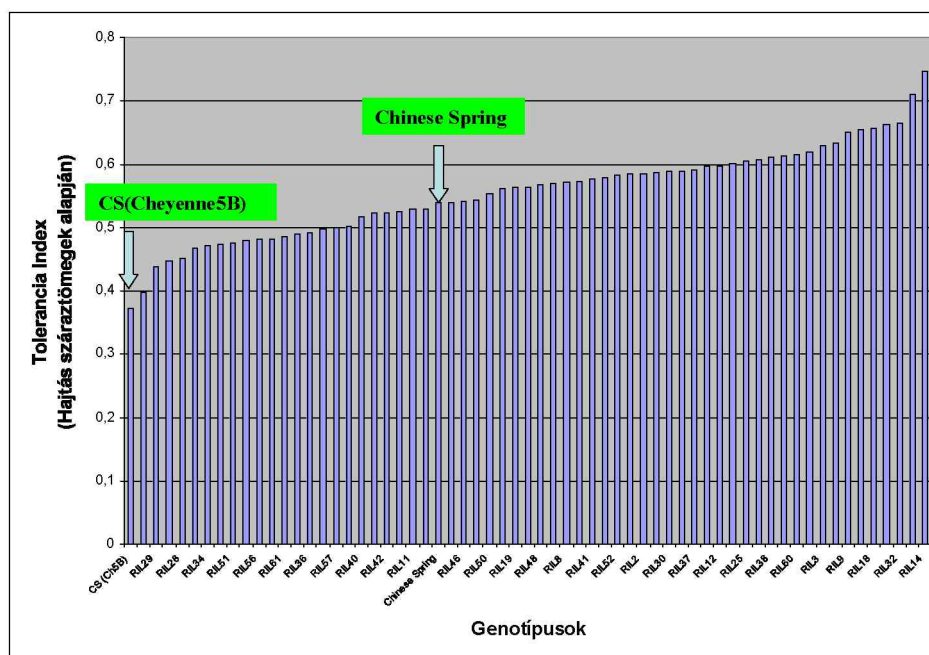
² ANOVA-teszt alapján.

A szülők Cu-toleranciája jelentősen különbözött: 'CS(Ch5B)' érzékenyebbnek mutatkozott, toleranciája az SCR-ekkel összevetve is a legkisebb volt. (17. táblázat, 22. ábra). A korábbi eredményekkel összhangban tehát ebben az esetben is a 'CS' hordozta a toleranciáért felelős főbb alléleket.



22. ábra. A réztolerancia adatok gyakorisági eloszlása a 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' búza térképezési populáció SCR vonalainál.

A Cu-tolerancia adatok eloszlása nem különbözik szignifikánsan a normális eloszlástól (17. táblázat, 22. ábra), illetve a fenotípusos adatok eloszlásfüggvénye is a folytonos eloszlást mutatja, diszkrét különbség az SCR-ek fenotípusa között nem figyelhető meg (23. ábra).



23. ábra. A fenotípusos adatok növekvő érték szerinti eloszlása a 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' búza térképezési populáció Cu-toleranciájának tesztelése során.

4.4.3.4. A Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA módszerrel

A vizsgált 23 markerből 2-nél találtunk a Cu-toleranciát befolyásoló kis szignifikáns hatást (18. táblázat). A tolerancia karakter meglepő módon a 'Ch'-ből származik, pedig a szülők közül a 'Ch' volt az érzékenyebb. Ez azt jelenti, hogy kell még lennie minimum 1 nagyobb hatású QTL-nek az 5B kromoszómán, melynél a tolerancia allélt a 'CS' 5B kromoszómája hordozza. Mivel ilyet nem találtunk, így ennek a kromoszóma egy olyan távoli részén kell elhelyezkednie, melyet nem érintenek az általunk térképezett markerek.

No	Marker	CS-CS(Ch5B)
1.	<i>Xgwm67</i>	0.2749 NS
2.	<i>Xgwm118</i>	0.2583 NS
3.	<i>Xgwm191</i>	0.6951 NS
4.	<i>Xgwm197</i>	0.5547 NS
5.	<i>Xgwm335</i>	1.5288 NS
6.	<i>Xgwm443</i>	2.5263 NS
7.	<i>Xgwm756</i>	1.7596 NS
8.	<i>Xgwm790</i>	0.0004 NS
9.	<i>Xgwm810</i>	0.4436 NS
10.	<i>Xgwm996</i>	0.4965 NS
11.	<i>Xgwm1016</i>	0.0085 NS
12.	<i>Xgwm1043</i>	0.4758 NS
13.	<i>Xgwm1054</i>	0.5134 NS
14.	<i>Xgwm1165</i>	3.4293 NS
15.	<i>Xwmc73</i>	0.1214 NS
16.	<i>Xgwm213</i>	1.4715 NS
17.	<i>Xgwm371</i>	6.1654 * Ch
18.	<i>Xgwm499</i>	5.1022 * Ch
19.	<i>Xgwm639</i>	0.5066 NS
20.	<i>Xgwm554</i>	0.8333 NS
21.	<i>Xgwm408</i>	0.0009 NS
22.	<i>Xgwm604</i>	1.8088 NS
23.	<i>Xwmc235</i>	0.0074 NS

18. táblázat. Cu-tolerancia térképezése single marker ANOVA analízissel a 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' populáció SCR vonalain.

Jelölések: *, **: a megfelelő allélokot tartalmazó vonalak Cu-toleranciája szignifikánsan különbözik egymástól $P \leq 0.05$ ill. 0.01 %-os szinten. CS, Ch: a tolerancia karakter (allél) a 'Chinese Spring'-ből ill. 'Cheyenne'-ből származik, NS: nem szignifikáns.

4.4.3.5. Cu-tolerancia intervallum térképezése

Az egyszerű intervallum térképezést a MapQTL 5.0 (VanOoijen, 2003) programmal végeztük el. A maximum-likelihood módszer alkalmazásával a legnagyobb hatást ($LOD = 1.32$) az *Xgwm371*-es marker kapcsoltan találtunk, mely egybevág a single marker ANOVA módszer eredményével. Mivel csak egy rekombináns kromoszómáról van szó, így az alacsonynak tűnő LOD-érték ellenére a hatás szignifikánsnak tekinthető (Lander és Botstein, 1989). A kis hatású QTL a fenotípusos variancia 10.7 %-ért volt felelős, az additív hatás - 0.023 volt ('Ch' allél).

4.4.4. A Cu-toleranciát és a hajtás Cu-, Fe-, Zn- és Mn-koncentrációkat befolyásoló lókuszek térképezése az 'ITMI' búza térképezési populáción

4.4.4.1. A fenotípusos adatok értékelése

A hajtás száraztömegek mind a szülőknél, mind a rekombináns vonalaknál szignifikánsan csökkentek a rézkezelés hatására. Az egyes rekombináns vonalak száraztömeg értékei szignifikánsan különböztek egymástól mind kontroll, mind rézkezelt körülmények között. (19. táblázat).

19. táblázat. A fenotípusos adatok leíró statisztikája és a varianciaanalízis eredménye

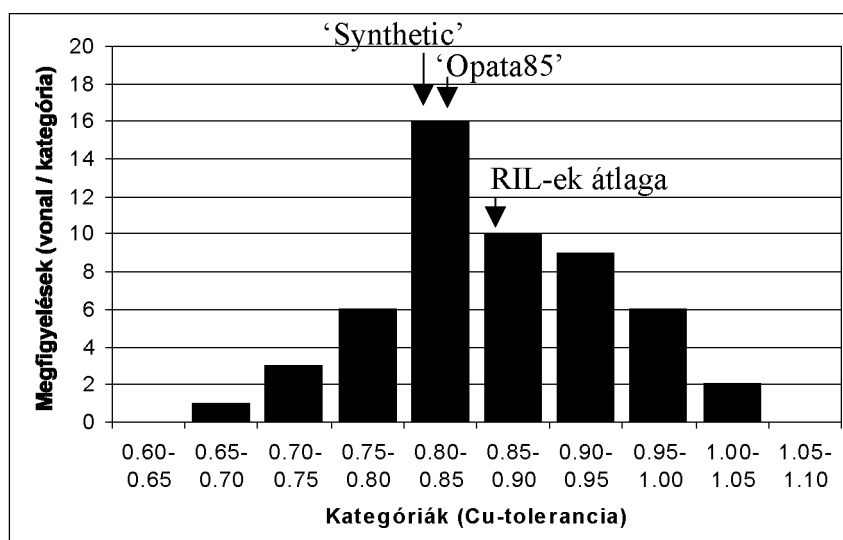
Vizsgált jelleg	A fenotípusos adatok eloszlásának normalitását jelző F-érték a RIL-eknél ¹	A szülők fenotípusa			A rekombináns beltenyésztett vonalak (RIL-ek) fenotípusa				
		'Opata 85'	'Synthetic'	A szülők fenotípusa közötti különbség ²	Tesztelt RIL-ek száma	Átlag érték	Minimum érték	Maximum érték	A rekombinánsok fenotípusa közötti különbség ²
Hajtás száraztömeg, kontroll (g)	15.7707 **	0.0358 ±0.0009	0.0433 ±0.0011	***	53	0.0438	0.0374	0.0536	***
Hajtás száraztömeg Cu-kezelt (g)	10.9183 *	0.0302 ±0.0029	0.0350 ±0.0026	NS	53	0.0374	0.0300	0.0451	***
Cu-tolerancia (Tolerancia Index)	2.5517 NS	0.84±0.07	0.81±0.05	NS	53	0.86	0.67	1.02	***
Hajtás Cu-koncentráció, kontroll (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	0.7838 NS	15.9±0.8	12.4±1.4	**	42	13.8	9.9	17.0	***
Hajtás Cu-koncentráció, Cu-kezelt (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	1.0399 NS	27.2±2.6	22.1±1.9	*	42	24.2	16.6	31.7	***
Hajtás Fe-koncentráció, kontroll (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	7.25144 *	79.3±5.6	69.3±6.4	NS	42	82.4	54.2	113.1	***
Hajtás Fe-koncentráció, Cu-kezelt (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	3.9837 NS	42.9±4.4	49.2±2.6	NS	42	48.6	33.0	65.5	**
Hajtás Mn-koncentráció, kontroll (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	7.6314 NS	177.2±20.0	106.9±7.1	***	42	160.5	88.2	220.0	***
Hajtás Mn-koncentráció, Cu-kezelt (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	3.9793 NS	117.6±21.5	68.0±4.5	**	42	102.6	62.4	167.9	***
Hajtás Zn-koncentráció, kontroll (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	3.0935 NS	84.9±6.6	67.4±6.9	**	42	81.4	52.5	122.9	***
Hajtás Zn-koncentráció, Cu-kezelt (mg/kg száraztömeg ⁻¹)	7.7809 NS	60.3±3.2	55.5±8.6	NS	42	64.1	39.4	113.7	***
Cu-akkumuláló képesség	2.3025 NS	1.71±0.16	1.79±0.22	NS	42	1.75	1.22	2.23	***

*, ** és ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 és 0.001 %-os szinten, NS = nem szignifikáns.

¹ A rekombináns beltenyésztett vonalak fenotípusos adat-eloszlásának összehasonlítása a normál eloszlással. A khi-négyzet teszthez tartozó F-érték.

² ANOVA-teszt alapján.

A szülők réztoleranciája között nincs jelentős különbség, azonban a rekombinánsok között találtunk olyan vonalakat, melyek szignifikánsan érzékenyebbek vagy toleránsabbak, mint a szülők (19. táblázat). A rekombinánsoknál a réztolerancia adatok eloszlása folytonos (24. ábra), amely jelzi, hogy a réztolerancia poligénikus meghatározottságú, kvantitatívan öröklődő jelleg. A fenotípusos adatok gyakorisági eloszlása nem különbözik szignifikánsan a normál eloszlástól a khi-négyzet teszt alapján (19. táblázat).



24. ábra. A réztolerancia adatok gyakorisági eloszlása az 'ITMI' búza populáció rekombináns vonalainál. Mindkét szülő az eloszlási diagram közepén helyezkedik el (kategória:0.80-0.85).

A rézkezelés következményeként a hajtás rézkoncentrációk mind a szülőknél, mind a rekombinánsoknál megemelkedtek. A hajtás Fe-, Mn- és Zn-koncentrációk azonban – különböző mértékben - csökkentek a rézkezelés hatására (19. táblázat).

A hajtás Cu-koncentrációk a rézkezelt növényekben 1.22-2.23-szor (átlagosan 1.75-ször) magasabbak voltak, mint a kontroll növények hajtásában (19. táblázat). A teljes hajtás réztartalmak (rézkoncentráció x hajtás száraztömeg) a rézkezelt növényeknél 1.48-szor magasabbak voltak, mint a kontroll növényeknél. A kontroll körülmények között nevelt RIL-eknél az átlag hajtás Cu-tartalom $0.60 \mu\text{g}/\text{növény}$, a minimum érték 0.45 , a maximum $0.86 \mu\text{g Cu}/\text{növény}$ volt. A Cu-kezelt RIL-eknél az átlag Cu-tartalom 0.89 , a minimum 0.59 , a maximum $1.31 \mu\text{g Cu}/\text{növény}$ volt.

A vizsgált paraméterek közötti korrelációs koefficiensek értékeit a Függelékben a 8.14. táblázat mutatja meg. A réztolerancia szoros pozitív korrelációt mutatott a hajtás száraztömegekkel a rézkezelt növényeknél. Szignifikáns negatív korreláció volt továbbá a réztolerancia és a kontroll hajtás-száraztömegek, valamint a réztolerancia és a rézakkumuláló képesség között. A réztolerancia és a kezelt növények hajtás réztartalma között nem volt szignifikáns korreláció, azonban érdekes módon negatívan korrelált a kontroll és rézkezelt hajtás Mn-koncentrációkkal és a rézkezelt növények hajtás Zn-koncentrációjával is. A kontroll növények hajtás Cu-koncentrációja pozitívan korrelált a kontroll növények hajtásának Fe-, Mn- és Zn-koncentrációjával.

4.4.4.2. Intervallum térképezés

Intervallum térképezéssel sikerült az 5B kromoszóma hosszú karján egy, a hajtás száraztömegeket kontroll körülmények között befolyásoló QTL-t meghatározni (20. táblázat, 25. ábra). A rézkezelt növények hajtás száraztömegét befolyásoló QTL-eket az 1A kromoszóma hosszú karján és az 5D kromoszóma hosszú karján határoztunk meg.

20. táblázat. Réztolerancia és a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat befolyásoló QTL-ek az 'ITMI' térképezési populációnál

Vizsgált jelleg	Legközelebbi marker	Int ¹ F-érték	LR ²	Int ³ LOD	Fenotípusos var. % ⁴	Add. effekt ⁵	SMA ⁶ átlag F-érték
Hajtás száraztömeg, kontroll	<i>Xabg473b-5B</i>	11.7356 **	10.976	2.23	17.7	0.0016	13.217 ***
Hajtás száraztömeg, Cu- kezelt	<i>Xksue11b-1A</i>	12.5717 **	11.678	2.69	20.9	-0.0017	11.093 **
Hajtás száraztömeg, Cu- kezelt	<i>Xcdo57b-5D</i>	18.9056 **	16.712	3.64	27.1	0.0020	18.967 ***
Cu-tolerancia (Tolerancia Index)	<i>Xcdo412b-5D</i>	14.6739 **	13.402	3.19	28.9	0.0366	13.6143 ***
Hajtás Cu-koncentráció, Cu- kezelt	<i>Xksui27a-1B</i>	17.8507 **	15.497	3.01	31.7	-2.2	14.9238 ***
Hajtás Fe-koncentráció, Cu- kezelt	<i>Xfba091a-3B</i>	12.7186 **	11.595	2.57	32.0	-3.2	11.34849 **
Hajtás Mn-koncentráció, kontroll	<i>Xpsr903a-3B</i>	12.3463 **	11.298	1.91	19.0	-12.5	12.927 **
Hajtás Mn-koncentráció, Cu- kezelt	<i>Xpsr903a-3B</i>	13.6724 **	12.348	2.43	23.6	-10.7	16.375 ***
Hajtás Zn-koncentráció, kontroll	<i>Xmwg30-3A</i>	10.6318 **	9.8994	2.0	28.5	7.6	5.572 *
Hajtás Zn-koncentráció, Cu- kontroll	<i>Xcdo545b-7A</i>	11.7158 **	10.789	1.91	23.2	7.4	9.464 **
Cu-akkumulációs képesség	<i>Xbcd1355-5A</i>	11.043 **	10.239	2.13	25.0	0.12	9.834 **

Magyarázat:

¹ - Regressziós eljárással végzett intervallum térképezés (Haley és Knott, 1992) alapján kapott F-érték (QTL Café program, Seaton, G.).

² - Regressziós eljárással végzett intervallum térképezés (Haley és Knott, 1992) alapján kapott LR-érték (QTL Café program, Seaton, G.).

³ - Maximum likelihood módszerrel végzett intervallum térképezés (Lander és Botstein, 1989) során kapott LOD-érték (MapQTL 5 program, Van Ooijen, 2003).

⁴ - Az egyedi QTL által magyarázott fenotípusos variancia százaléka (MapQTL 5 program, Van Ooijen, 2003).

⁵ - Additív effekt: pozitív érték: a hatást okozó allél a 'Synthetic'-ből származik; negatív érték: a hatást okozó allél az 'Opata85'-től származik.

⁶ - SMA: a single marker ANOVA analízishez tartozó F-értékek a megfelelő megbízhatósági szintekkel (*, **, ***: $P \leq 0.05$ %, 0.01 % és 0.001 %, NS = nem szignifikáns).

Egy Cu-toleranciát befolyásoló QTL-t (*QCuc.ipk-5D*, LOD=3.19) azonosítottunk az 5D kromoszóma hosszú karján, mely a rézkezelt növények hajtás száraztömegét befolyásoló QTL-lel (*QDwc.ipk-5D*, LOD=3.64) közel azonos pozícióban helyezkedett el (20. táblázat, 25. ábra). A Cu-toleranciát befolyásoló QTL a fenotípusos variancia 28.9 %-t magyarázta.

A hajtás rézkoncentrációkat kontroll körülmények között befolyásoló QTL-t nem sikerült meghatározni, de a rézkezelt növények hajtás Cu-koncentrációját befolyásoló QTL-t (*QCuc.ipk-1B*, LOD=3.01) az 1B kromoszóma hosszú karján sikerült azonosítani (25. ábra, 20. táblázat). A 3B kromoszómán 3 QTL-t is sikerült meghatározni: egy a Cu-kezelt növények hajtás Fe-koncentrációját (*QFec.ipk-3B*, LOD=2.57), 1-1 pedig a kontroll és kezelt növények hajtás Mn-koncentrációját (*QMn.ipk-3B*, LOD=1.91; *QMnc.ipk-3B*, LOD=2.43) befolyásolta – ez utóbbi 2 QTL azonos pozícióban helyezkedett el. A kontroll növények

hajtás Zn-koncentrációját a 3A kromoszómán elhelyezkedő (*QZn.ipk-3A*, LOD=2.0), míg a rézkezelt növények hajtás Zn-koncentrációját a 7A kromoszómán elhelyezkedő QTL (*QZnc.ipk-7A*, LOD=1.91) befolyásolta. Az egyes hajtás fémkoncentrációkat befolyásoló QTL-ek a fenotípusos variancia 19.0 – 32.0 %-ért voltak felelősek (20. táblázat).

A rézakkumuláló képességet befolyásoló QTL-t (*QCua.ipk-5A*, LOD=2.13) az 5A kromoszóma hosszú karján, a centromérához közel sikerült azonosítani (20. táblázat, 25. ábra), mely a fenotípusos variancia 25.0 %-ért felelős.

4.4.4.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése single marker ANOVA módszerrel

Single marker ANOVA analízissel hat Cu-toleranciát befolyásoló markert találtunk $P \leq 0.05$ %-os szignifikancia szint alkalmazása esetén (21. táblázat). A legnagyobb hatású marker az 5D kromoszómán azonos pozícióban helyezkedett el, mint az intervallum térképezéssel azonosított Cu-toleranciát befolyásoló QTL (*QCut.ipk-5D*). A toleranciát okozó allél a 'Synthetic'-ből származott, azonban toleranciát fokozó kisebb hatású allélokat az 'Opata85'-nél is azonosítottunk (21. táblázat). Ez az eredmény magyarázat arra, hogy miért találtunk a rekombináns beltenyésztett vonalak között a szülői formáktól szignifikánsan jobb toleranciájú vonalakat, annak ellenére, hogy a szülők toleranciája szignifikánsan nem különbözött. Az allélok kedvező újrakombinálódása ugyanis új tolerancia karakter megjelenését eredményezheti az utódokban (transzgresszív szegregáció).

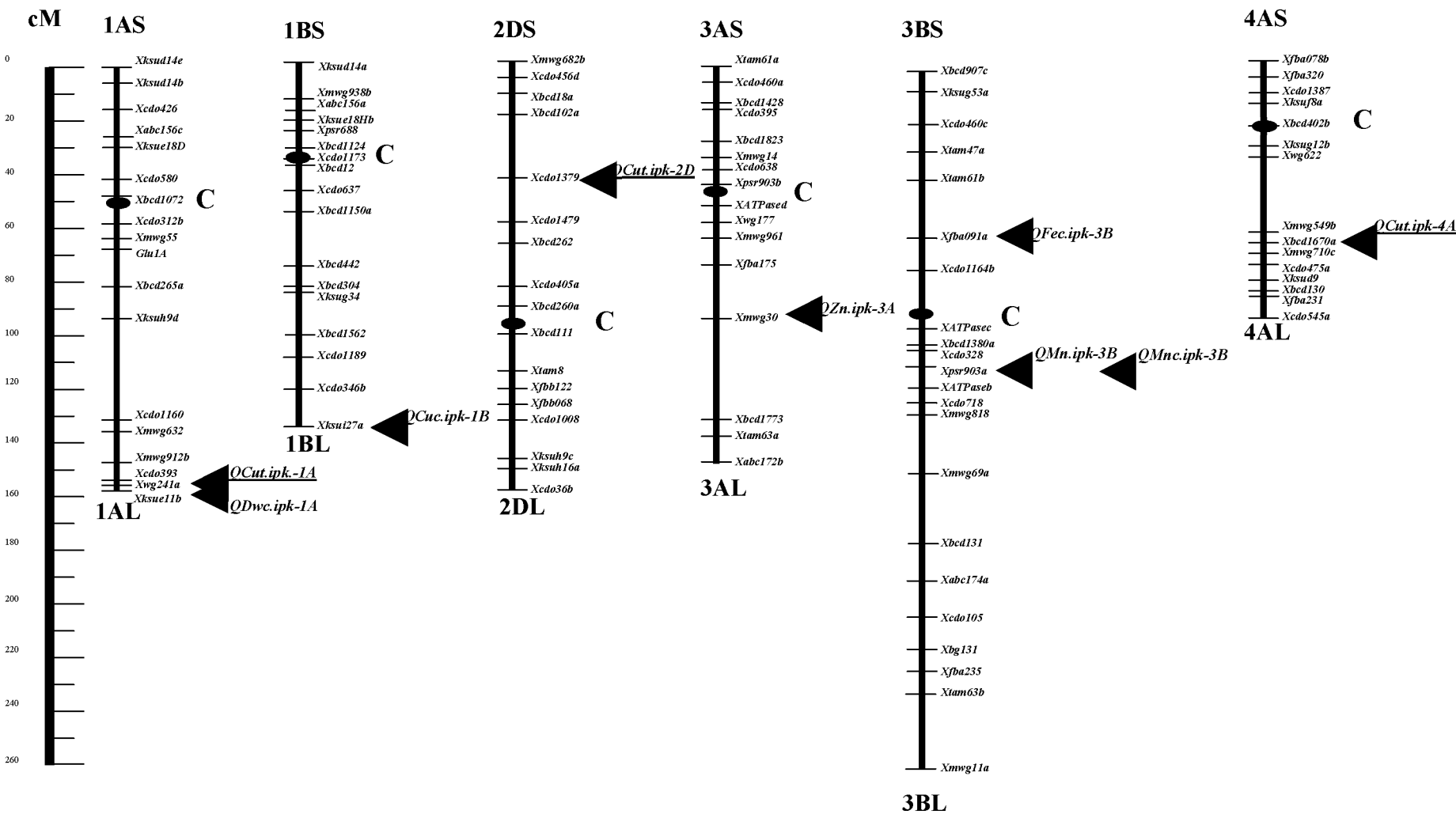
21. táblázat. A réztolerancia single marker ANOVA analízisének eredménye az 'ITMI' térképezési populációnál.

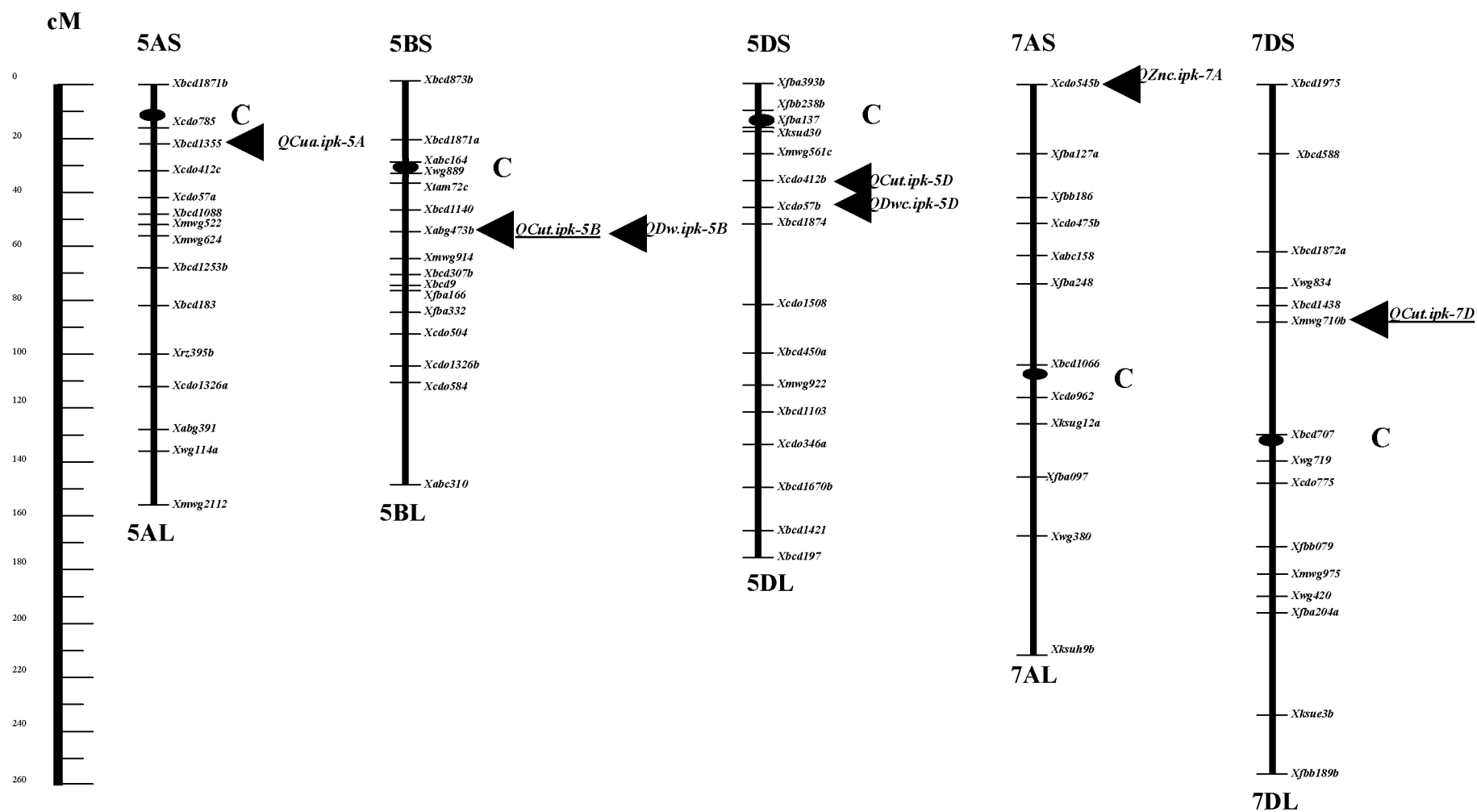
Marker	F-érték	Tolerancia jelleget adja az
<i>Xcdo412b-5D</i>	13.6143 ***	'Synthetic'
<i>Xwg241a-1A</i>	9.329987 **	'Opata85'
<i>Xmwig710b-7D</i>	6.866309 *	'Synthetic'
<i>Xbcd1670a-4A</i>	6.589011 *	'Opata85'
<i>Xabg473b-5B</i>	4.791575 *	'Opata85'
<i>Xcdo1379-2D</i>	4.032821 *	'Opata85'

*, ** és ***: szignifikáns $P \leq 0.05$ %, 0.01 % és 0.001 %-os szinten.

25. ábra. A Cu-tolerancia és az egyéb vizsgált jellegek QTL-analízisének eredménye az ‘Opata85’ x ‘Synthetic’ keresztezéséből származó búza térképezési populáció rekombináns beltényesztett vonalainak tesztelése alapján.

Jelölések: A markereket a kromoszómák jobb oldalán jelöltük. A QTL-eket a legközelebbi markerhez mutató nyíl jelzi. A QTL-ek rövidítése: *QDw*: kontroll növények hajtás száraztömege, *QDwc*: Cu-kezelt növények hajtás száraztömege, *QCut*: Cu-tolerancia, *QCuc*: hajtás Cu-koncentráció a Cu-kezelt növényekben, *QFec*: hajtás Fe-koncentráció a Cu-kezelt növényekben, *QMn*: hajtás Mn-koncentráció a kontroll növényekben, *QMnc*: hajtás Mn-koncentráció a Cu-kezelt növényekben, *QZn*: hajtás Zn-koncentráció a kontroll növényekben, *QZnc*: hajtás Zn-koncentráció a Cu-kezelt növényekben, *QCua*: hajtás Cu-akkumuláló képesség. A vastag nyíl és a C betű a centroméra pozícióját jelzi. A single marker ANOVA módszerrel meghatározott QTL-eket aláhúzással jelöltük.





4.5 A 'Chinese Spring' (toleráns) és 'Synthetic R93' (érzékeny) búzafajta agronómiai jellegeinek vizsgálata kontroll és 1500 mg/kg rézet tartalmazó talajon

Az eddigi kísérletekben legtoleránsabbnak mutakozó 'CS' terméseredményeit vizsgáltuk egy érzékenynek talált fajtaival ('Synthetic R93') összevetve üvegházban. Rézkezelés hatására minden általunk vizsgált paraméter csökkent mindkét búzafajtánál (22. táblázat). Bár a 'Synthetic R93' fajta kontroll körülmények között jobban terem, mint a 'CS', azonban rézkezelés hatására a 'CS' teljesít jobban, alátámasztva a fajta toleráns jellegét. A terméseredmény csökkenése részben a bokrosodás elmaradásának, részben a kalászkák, illetve kalásonkénti szemszám csökkenésének a következménye. Mindezek miatt a 'Synthetic R93' termésmennyisége gyakorlatilag nullának tekinthető. Az üvegházban kapott terméseredményeket hektáronkénti terméseredményre kivetítve (4.5 millió csíra/ha számolva) a 'CS' kontroll körülmények között 5.625 t/ha, míg a 'Synthetic R93' 11.52 t/ha termést hozna. Ugyanezek az adatok 1500 mg/kg Cu-t tartalmazó rézkezelt talajon 1.485 t/ha a 'CS' és 0.315 t/ha a 'Synthetic R93' esetében. Az üvegházban kapott eredmények természetesen nem adaptálhatók a szántóföldi körülményekre, de a fajták Cu-toleranciája közötti különbséget jelzik. Érdekes, hogy az ezerszemtömegek esetében egyik fajtánál sem figyeltünk meg a kontrollhoz képest jelentős csökkenést.

22. táblázat. Érésig nevelt 'CS' és 'Synthetic R93' búzafajták terméseredményei kontroll és Cu-kezelt (1500 mg/kg Cu-koncentráció) talajon nevelve.

	'CS' kontroll	'CS' 1500 mg/kg Cu-kezelt kontroll %-ban:		'Synthetic R93' Kontroll	'Synthetic R93' 1500 mg/kg Cu-kezelt kontroll %-ban:	
Hajtáshossz (cm)	76 ± 6.1	57.5 ± 3.7	75.7	54 ± 10.8	33.5 ± 10.8	62.0
bokrosodás (oldalhajítás/növény)	2.6 ± 0.5	1 ± 0.0	38.5	3 ± 0.0	1 ± 0.0	33.3
kaláshossz (cm)	7.8 ± 0.5	5.9 ± 0.4	75.6	8.2 ± 0.6	3.6 ± 0.5	43.9
kalászkaszám	20 ± 0.6	13 ± 1.6	65.0	14 ± 1	7 ± 0.0	50.0
kalásonkénti szemszám	25.3 ± 5.2	16.8 ± 3.8	67.2	19 ± 9	1.7 ± 2.1	8.9
kalásonkénti szemsúly (g/kalász)	0.52 ± 0.15	0.33 ± 0.07	63.5	0.85 ± 0.45	0.07 ± 0.08	8.2
1000szemtömeg	20.4 ± 4.4	19.8 ± 1.8	97.0	43.2 ± 4.1	39.2 ± 1.2	90.7
növényenkénti szemszám	62.9 ± 15.4	16.8 ± 3.8	26.7	58 ± 14.3	1.7 ± 2.1	2.9
növényenkénti szemsúly (g/növény)	1.25 ± 0.27	0.33 ± 0.07	26.4	2.56 ± 0.63	0.07 ± 0.08	2.7

5. ÉRTÉKELES

5.1. Cu-toleráns genotípusok keresése búza- és búzaroconfajok között

A hexaploid búza allopoliploidizációval, azaz vad gabonafajok közötti spontán hibridizációval alakult ki. A búza kialakulásában szerepet játszó *Aegilops* és *Triticum* fajok így génforrásként szolgálhatnak a környezeti stresszekkel szemben ellenállóbb, illetve jobb minőségű búzafajták nemesítése során. A diploid *Aegilops uniaristata* 3N kromoszómájáról pl. az Al-toleranciát (Miller és mtsai., 1992), míg a *Thinopyrum bessarabicum* fajból a sőtűrésért felelős gént sikerült a búzába átvinni introgressziós vonalak segítségével (King és mtsai., 1997).

Cu-toleráns és érzékeny vonalak azonosítása céljából 27 *Triticinae* szubtribuszba tartozó genotípus (*Aegilops* (kecskebúza) *Triticum* (búza), *Secale* (rozs) fajok és tritikálé) Cu-tolerancia tesztelését végeztük el, melyek nem csak a hexaploid búza közvetlen őseit reprezentálták (A, AB, D és S(B) genomú fajok), de a közeli rokonfajokat (rozs), és a mesterségesen előállított genotípusokat is (hexaploid tritikálé, oktoploid *Triticum timonovum*). Legtoleránsabbnak a rozs (*Secale*) fajok mutatkoztak, míg a legérzékenyebb genotípusokat a diploid A genomú fajok (*T. monococcum* – alakor) között találtuk. Bár a rozs genotípusok korábban már igazolt fémtoleráns képessége (Manyowa és Miller, 1991) most is megmutatkozott, de réztűrő képességük a legtoleránsabb búzafajták toleranciáját csak kismértékben haladta meg. Az *Aegilops* fajok között nem találtunk kiugróan toleráns genotípusokat. Az általunk vizsgált hexaploid genotípusok nagy része viszonylag toleránsnak tekinthető - legtoleránsabb a 'Chinese Spring' fajta volt -, míg a 'Bánkúti1201' kifejezetten érzékenynek tűnt a többlet réz károsító hatásával szemben.

5.2. A réztoleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása

5.2.1. Nagyszámú genotípus Cu-toleranciájának tesztelésére alkalmas talajos növénynevelési rendszer kidolgozása

A réztolerancia élettani vizsgálatához a vízkultúras tesztek az általánosan elfogadottak, azonban nagyszámú genotípus – pl. térképezési populációk – tesztelésére a módszer nem alkalmas. A fentiek miatt kidolgoztunk egy talajos tesztelési rendszert, ahol szilárd, elporított $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -t kevertünk a talajhoz. A réz-szulfátra azért esett a választásunk, mert évszázadok óta használják növényvédőszerként („bordói lér”), és a szőlő valamint komlóültetvények talajába – ahol állókultúrák egyéves növényekkel történő felváltása esetén a Cu-toxicitás valós probléma (Csathó, 1994) – szintén ilyen formába jut be. Bár irodalmi

adatok alapján a réz toxikus hatása már 60-125 mg/kg talaj Cu-koncentrációnál jelentkezik (Kabata-Pendias és Pendias, 1984), azonban nekünk még 375 mg/kg talaj Cu-koncentráción sem sikerült a réz toxicitásra utaló tüneteket megfigyelni 2 hónapos búzanövényeken. A kísérleteink alapján a búza réztoleranciájának tesztelésére az 1000-1500 mg/kg Cu-koncentráció a megfelelő. 3 év tapasztalata alapján a leginformatívabb az 1250 mg/kg Cu-koncentráció.

5.2.2. A Cu-toleranciát befolyásoló gének kromoszómális lokalizációjának meghatározása

A kromoszómális lokalizáció meghatározásának egyik legegyszerűbb módja a megfelelő szubsztitúciós sorozatok tesztelése (Sutka, 2004), ezzel a módszerrel azonosították pl. az Al- (Aniol és Gustafson, 1984; Aniol, 2004; Budzianowski és Wos, 2004) és a B-toleranciában ill. felvételben szerepet játszó kromoszómákat (Paull és mtsai., 1988). A 'Chinese Spring' (recipiens) / 'Cappelle Desprez' (donor) szubsztitúciós sorozat tesztelésének eredménye a Cu-tolerancia poligénikus kontrollját támasztotta alá. Nehézfém-toleráns növényekkel korábban elvégzett genetikai vizsgálatok is azt mutatták, hogy a fém-toleranciáért egy-két nagyobb hatású és néhány kisebb hatású módosító gén felelős (Macnair, 1993; Schat és mtsai., 2000). A vizsgálataink alapján a búza réztoleranciájára a legnagyobb hatást a 7D, 5A, 3D és 5D kromoszóma gyakorolta, az 5B és 6B kromoszómák csak kis mértékben, bár szignifikánsan befolyásolták a recipiens szülő réztoleranciáját. Az 5-ös homeológ csoport szerepét a búza/rozs szubsztitúciókkal elvégzett vizsgálataink is alátámasztották.

A 3-as, 4-es, 5-ös és 7-es homeológ kromoszómák szerepét a fémstresszek tolerálásában több független kísérletben is igazolták: a 3-as homeológ csoportba tartozó kromoszómák az Al-toxicitás elleni védekezésben játszanak szerepet a búzában és rozsban (Aniol és Gustafson, 1984; Manyowa és Miller, 1991). A diploid *Aegilops uniaristata* 3N kromoszómájával sikerült az Al-toleranciát a búzába átvinni (Miller és mtsai., 1992), valamint a B-toleranciáért felelős főbb gének hatását módosító géneket találtak a rozs 3R, *Ae. sharonensis* 3S, és az *Agropyron elongatum* 3E kromoszómáján (Manyowa 1989). A Cu-toxicitás elleni védekezésben az búza-*Aegilops geniculata* hibrid vonalak vizsgálata alapján az *Ae. geniculata* 3U kromoszómája játszik szerepet (Landjeva és mtsai., 1998).

A búza 4A és 4D kromoszómák az Al-, B- és Cu-toleranciáért felelős géneket hordozzák (Manyowa és Miller, 1991), míg az árpa 4H kromoszóma a sótűréséért felelős géneket hordozza (Forster és mtsai., 1990).

Az 5-ös homeológ csoport szerepe az ásványi stresszek tolerálásában a *Triticeae*

tribuszba tartozó fajoknál központinak látszik: az Al-toleranciára nagy hatást gyakorol a rozs 5R, az 5E^bL/6E^bL kromoszómák a *Thinopyrum bessarabicum* fajnál, és az 5D az 'Atlas 66' búzafajtánál (Manyowa és miller, 1991). A B-toleranciáért felelős géneket hordoz az 'Imperial' rozsfajta 5R, és az *Aegilops sharonensis* 5S¹ kromoszómája (Manyowa és Miller, 1991). A többlet Cu tolerálásában szerepet játszó nagyobb hatású géneket hordoz a *T. aestivum* ssp. *spelta* 5A, a 'Synthetic' búzafajta 5A kromoszómája, valamint kisebb módosító géneket hordoznak a *Thinopyrum bessarabicum* 5Eb, 5E^bL/6E^bL és a rozs 5R kromoszómája (Manyowa és Miller, 1991).

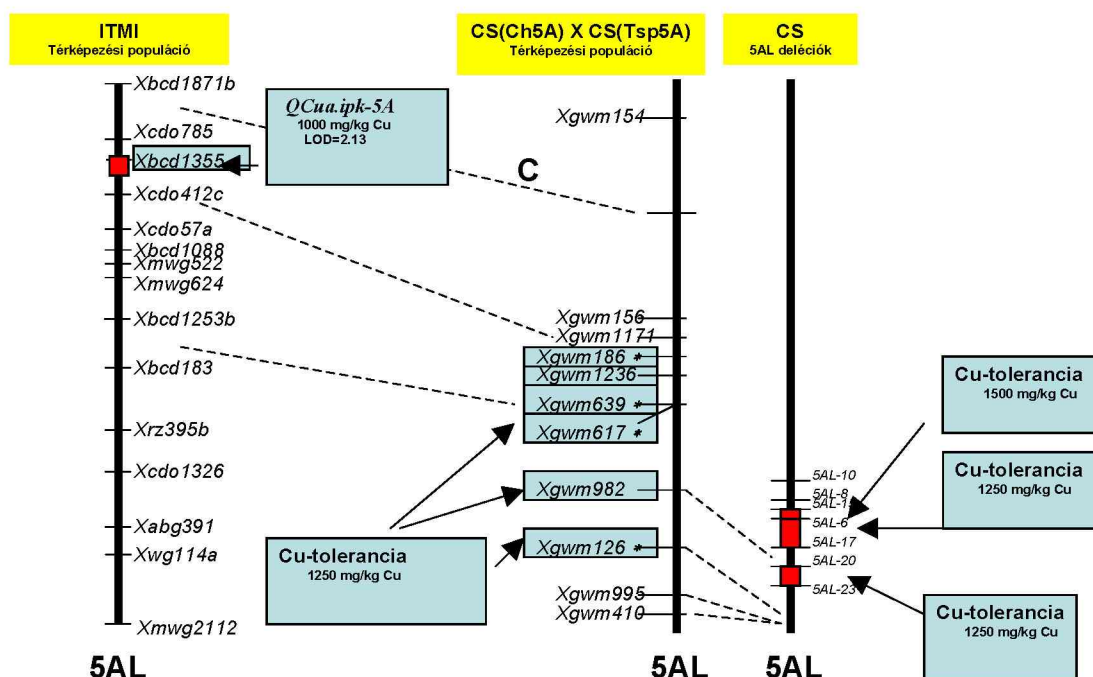
A 7-es homeológ csoport szerepét a Cu-toleranciában Manyowa és Miller (1991), a B-toleranciában (7B, 7D) Jefferies és mtsai. (2000) vizsgálatai igazolták.

A különböző kísérletekben kapott gyakran eltérő eredmények - pl. saját vizsgálatok és Manyowa (1989) eredményei között - nem csak a réztolerancia poligénikus kontrollját valószínűsítik, de elképzelhető az is, hogy a különböző populációkban ill. eltérő kísérleti körülmények között a réztoleranciában szerepet játszó gének eltérő mértékben expresszálódnak. Az expresszió mértékét a növény kora, a környezet és a rézkezelés módja is befolyásolhatja. Ganeva és mtsai. (2003) 'Cappelle-Desprez' (recipiens) – Bezostaya-1 (donor) szubsztitúciós sorozattal elvégzett vizsgálata rávilágít a kísérleti körülmények megválasztásának szerepére: búzanövényeket neveltek vízben (kontroll) és 10⁻⁶ M CuSO₄ · 5H₂O-t tartalmazó oldaton a réztoleranciát befolyásoló kromoszómák meghatározása céljából. Ganeva és mtsai. (2003) Cu-kezelés hatására a gyökér és hajtás száraztömegekben nem csökkenést, hanem esetenként 20 %-os növekedést figyeltek meg a kontroll (vízben nevelt) növényekhez képest, szignifikáns hatást a 7A, 1D, 3A, 3B, 3D, 4A és 4D kromoszómákon határoztak meg. Mindez azt jelzi, hogy az általuk alkalmazott Cu-koncentráció nem volt elég nagy a toxikus tünetek, így a növekedésgátlás kiváltásához. Az így kapott eredmények tehát inkább használhatók a normális Cu-ellátásban – pl. rézfelvételben -, mint a Cu-elleni védekezésben szerepet játszó kromoszómák azonosítására. A környezet, illetve a vizsgálatához használt fajta szerepét talajos rendszerben elvégzett kísérleteink is alátámasztják: míg Kabata-Pendias és Pendias (1984) vizsgálatai szerint búzánál a toxikus tünetek szabadföldön már 60-125 mg/kg talaj rézkoncentrációnál megjelentek, addig saját üvegházban elvégzett kísérleteink során 2 hetes korban 1000 mg/kg volt a legkisebb Cu-koncentráció, ami toxikusnak bizonyult.

5.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok fizikai és genetikai térképezése deléciók és introgressziós vonalak, valamint térképezési populációk felhasználásával

5.3.1. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5A kromoszómán

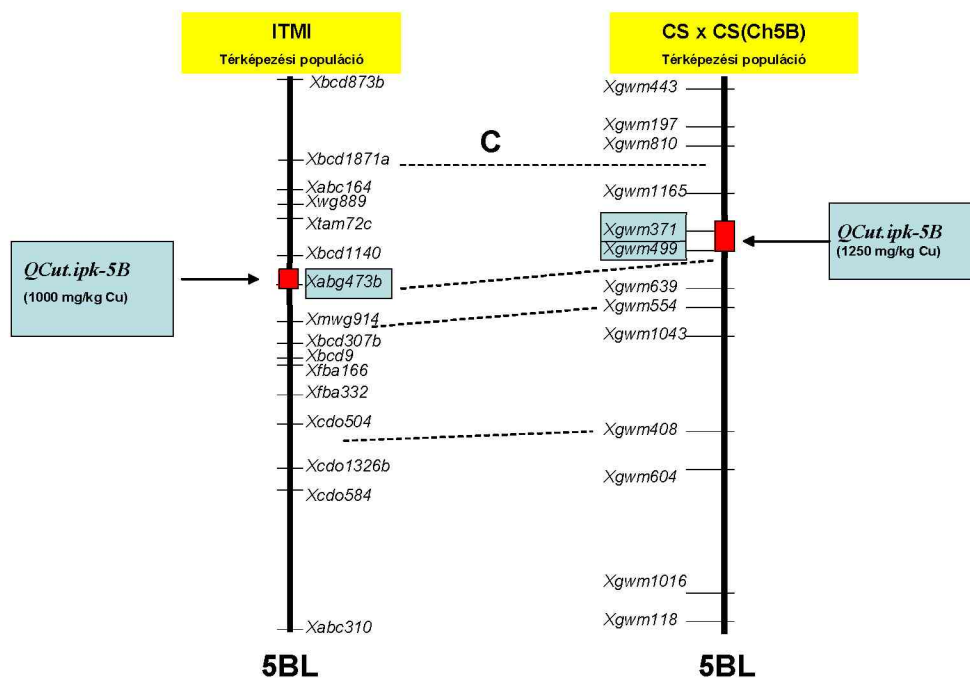
A térképezési populációk illetve deléciós vonalak segítségével az 5A kromoszóma hosszú karján az *Xgwm186* és *Xgwm126* mikroszatellit markerek közötti régiót sikerült meghatározni, mint réztoleranciát befolyásoló lókuszt. A deléciós sorozatokkal kapott eredmények összevethetők a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' térképezési populáción kapott eredményekkel, a réztoleranciát befolyásoló lókuszok a kromoszóma azonos régiójába esnek (26. ábra). Az 'ITMI' populáción ugyan az 5A kromoszómán nem találtunk Cu-toleranciát befolyásoló lókuszt, azonban sikerült egy réz-akkumuláló képességet befolyásoló régiót térképezni, mely a térképek összevetése alapján közvetlenül a másik populáción meghatározott Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok mellett helyezkedik el az 5A kromoszóma hosszú karján (26. ábra).



26. ábra. A Cu-toleranciát illetve a hajtás Cu-akkumuláló képességet befolyásoló régiók térképezése a búza 5A kromoszómán. A 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' térképezési populáción a markerek elhelyezése Röder és mtsai. (1998) mikroszatellit térképe alapján készült. Az egyes térképek egymásnak megfelelő régióit szaggatott vonal köti össze.

5.3.2. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5B kromoszómán

Térképezési populációk segítségével sikerült az 5B kromoszómán egy kis hatású lókuszt meghatározni mind az 'ITMI' (*QCut.ipk-5B*), mind a 'CS' x 'CS(Ch5B)' térképezési populációk segítségével. Az 'ITMI' populációnál a réztoleranciát befolyásoló lókuszt az *Xabg473b* RFLP markerrel kapcsolatosan helyezkedett el, míg a másik populációnál a hatás az *Xgwm371* és *Xgwm499* SSR markerekkel volt kapcsolatos (27. ábra). A két eredmény egybevágt egymással, ugyanis az *Xabg473* RFLP marker szorosan kapcsolatos az *Xgwm499* SSR markerrel (Röder és mtsai., 1998; Röder, 2004, személyes közlés).

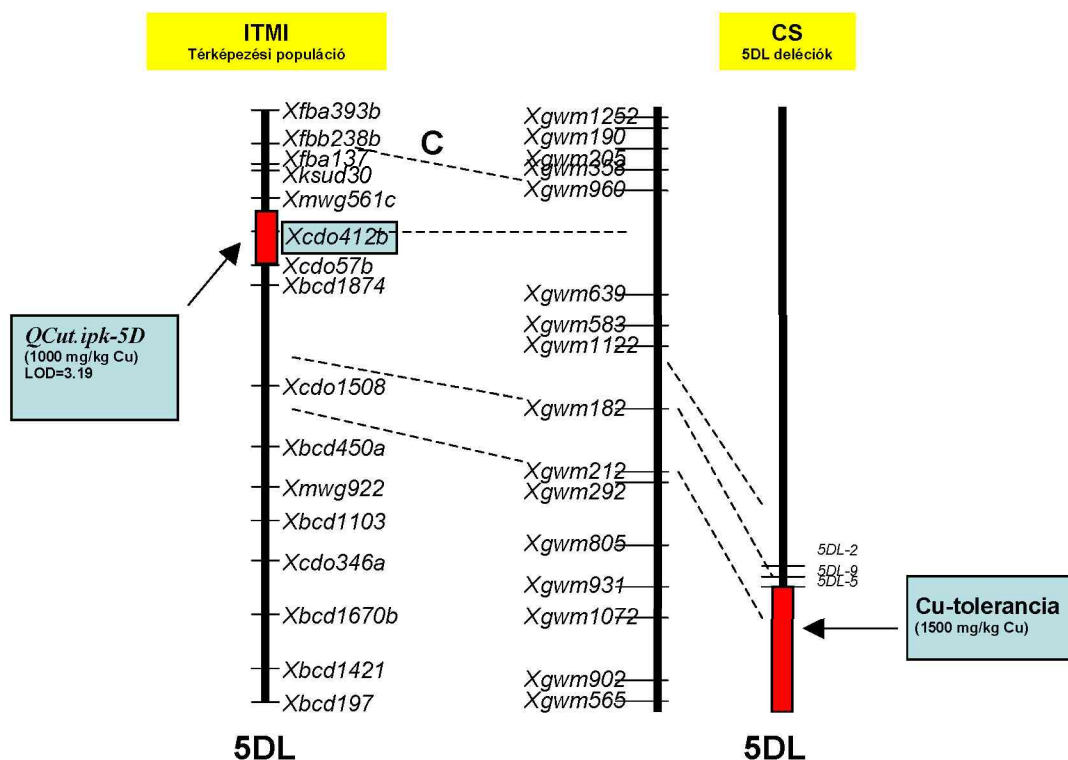


27. ábra. A Cu-toleranciát befolyásoló régiók térképezése a búza 5B kromoszómán. Az egyes térképek egymásnak megfelelő tethető régióit szaggatott vonal köti össze.

A 'CS' x 'CS(Ch5B)' populáción az *Xgwm371* és *Xgwm499*-es markereknél a tolerancia karaktert a 'Cheyenne' allél hordozta. Mivel ez a QTL a fenotípusos variancia mindössze 10 %-ért volt felelős, így feltételezhetően kell lennie még egy régióknak a kromoszómán, ahol egy nagyobb hatású QTL található. Ezt alátámasztja az is, hogy bár a szülők közül a 'CS' volt a toleránsabb, a megtalált QTL esetében mégis a 'Ch' allél felelős a tolerancia karakterért. A másik QTL-nek így a 'CS'-től kell származnia, és feltételezhetően a kromoszóma egy olyan régiójába esik, amelyet a markerekkel nem sikerült lefedni.

5.3.3. A Cu-toleranciát befolyásoló lókuszok térképezése az 5D kromoszómán

Az 'ITMI' térképezési populáció esetében a Cu-toleranciára a legnagyobb hatást gyakorló QTL-t az 5D kromoszóma hosszú karján térképeztük (*QCut.ipk-5D*, LOD=3.19), mely az *Xcdo412* RFLP markerhez kapcsoltn helyezkedett el az 5D kromoszóma centromérához közeli részén (89. ábra). Ez a QTL a fenotípusos variancia 28.9 %-át magyarázta, és közel azonos pozícióban helyezkedett el, mint a rézkezelt növények hajtás száraztömegét befolyásoló QTL (*QDwc.ipk-5D*, 3. fejezet, 25. ábra).



28 ábra. A Cu-toleranciát befolyásoló régiók térképezése a búza 5D kromoszómán. Az egyes térképek egymásnak megfelelő tethető régióit szaggatott vonal köti össze.

A deléciós vonalakkal végzett vizsgálatok alapján az 5D kromoszóma hosszú karjának telomérához közeli része is szerepet játszik a Cu-toleranciában. Sajnos az 'ITMI' populáción térképezett QTL az 5D kromoszóma deléciók által nem érintett részén helyezkedik el, így ezeket a rendelkezésre álló deléciós vonalakkal térképezni nem lehet. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy az 5D kromoszómán több, a Cu-toleranciára hatást gyakorló régió is

elhelyezkedik.

5.3.4. A réztoleranciát befolyásoló lókusztérképezése a 3D kromoszómán 'Chinese Spring'-*Aegilops tauschii* introgressziós (közel izogén) vonalak segítségével

Mivel a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat vizsgálata alapján a 3D kromoszóma is szerepet játszik a réztoleranciában, ezért a gaterslebeni intézetben elvégeztük a 'CS'-*Ae. tauschii* introgressziós vonalak réztolerancia tesztjét is.

Az egyszerű varianciaanalízis alapján a *Xgwm161*-es markernél találtunk szignifikáns, Cu-toleranciát befolyásoló hatást. A toleráns allél a 'CS'-ből származott, így ebben az esetben is – mint a korábbi vizsgálataink során is – a 'CS' volt a toleráns genotípus. Az *Xgwm161*-es marker a 3D kromoszóma rövid karján helyezkedik el (4.4.1. fejezet, 18. ábra.).

5.3.5. A Cu-toleranciát befolyásoló kisebb hatású lókuszok térképezése az 1A, 4A, 2D, és 7D kromoszómákon

Az 'ITMI' búza térképezési populáció tesztelése során az 5D és 5B kromoszómák mellett az 1A, 4A, 2D, és 7D kromoszómákon is találtunk Cu-toleranciát befolyásoló kisebb hatást (4.4.5.3. fejezet, 25. ábra). Ezeken a kromoszómákon térképezett lókuszok feltehetően nem specifikusan a Cu-toleranciáért felelősek, hanem az általános környezeti adaptációt illetve a növények fejlődését befolyásoló géneket hordoznak. Ezt alátámasztja, hogy a 2DS és 4AL kromoszómán megfigyelt Cu-toleranciát befolyásoló régiókban ugyanezen a populáción térképeztek korábban olyan nagy hatású QTL-eket, melyek a virágzási időt, kalásonkénti szemszámot, növénymagasságot, kaláshányási időt és a kalász hosszát befolyásolják (Börner és mtsai., 2002).

5.4. A hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat és a Cu-akkumuláló képességet befolyásoló lókuszok térképezése

A búza az emberiség legfontosabb gabonanövénye, szemtermése azonban a humántáplálkozás szempontjából nagyon kevés Fe-t és Zn-t, és kisebb mértékben, de szintén kevés Cu-t és Mn-t tartalmaz (Salunkhe és Desphande, 1991). Korábbi vizsgálataink alapján a búzafajták és búza rokonfajok szemtermés ásványi összetétele nagy variabilitást mutatott az egyes genotípusok között (Bálint és mtsai., 2001), így a genetikai alapanyag a kedvezőbb szemtermés ásványi összetételű fajták nemesítéséhez rendelkezésre áll. A megfigyelések szerint a nagyobb hajtás ásványi elemtartalmú genotípusok szemtermésében is magasabb ásványi elemtartalom várható (Welch, 1986). Az 'ITMI' populáció szelektált rekombinációs vonalainál meghatároztuk ezért a hajtás Cu, Fe, Mn és Zn-tartalmakat kontroll és Cu-kezelt

körülmények között befolyásoló QTL-eket, mely segíthet a magasabb hajtás – és ezáltal szemtermés – ásványi összetételű fajták szelektálásában.

A Fe és Cu esetében nem találtunk a kontroll körülmények között nevelkedett növények hajtás fémkoncentrációját befolyásoló QTL-t. A 3B kromoszóma centromerikus régióján határoztuk meg a Cu-kezelt növények hajtás Fe koncentrációját befolyásoló QTL-t (*QFec.ipk-3B*). Szintén ebben a régióban, de más pozícióban térképeztük a hajtás Mn-koncentrációkat befolyásoló QTL-eket mind a kontroll (*QMn.ipk-3B*), mind a Cu-kezelt (*QMnc.ipk-3B*) növényeknél. A hajtás Zn-koncentrációkat kontroll körülmények között befolyásoló QTL-eket a 3A kromoszóma hosszú (*QZn.ipk-3A*), és 7A kromoszóma rövid karján térképeztük (*QZn.ipk-7A*).

A Cu-kezelt növények hajtás Cu-koncentrációját befolyásoló QTL-t (*QCuc.ipk-1B*) az 1BL kromoszóma disztális végén térképeztük, míg a Cu-akkumuláló képességet befolyásoló lókuszt (*QCua.ipk-5A*) az 5A kromoszóma hosszú karjának proximális, centromérához közel eső részén. Búza-rozs addíciós vonalak vizsgálatával a hajtás Cu-koncentrációkra a rozs 5R kromoszómája gyakorolt szignifikáns hatást (Schlegel és Cakmak, 1997). A mikroelemek felvételében szerepet játszó mugineinsav szintézis is feltehetően az 5-ös kromoszómához kötött, mivel rozsnál a mugineinsav szintézisre az 5R kromoszóma gyakorolt hatást (Mori és mtsai., 1990), valamint a nehézfémek felvételére hatást gyakorló hidroxámsavak akkumulációját a búza 5B kromoszóma befolyásolta (Niemeyer és Jerez, 1997).

Érdekes, hogy a rozs Cu-hasznosítás hatékonyságában (Cu-efficiency) szerepet játszó gént is az 5R kromoszómán térképezték fizikailag (Schlegel és mtsai., 1993), illetve az 5A/5RL búza-rozs transzlokációs vonalban a rozs kromoszómaszegment fokozta a Cu-hasznosítás hatékonyságát (Owuoche és mtsai., 1996).

A vizsgált nehézfémek hajtás koncentrációját különböző QTL-ek befolyásolták, ami a szigorúan fém-specifikus nehézfémion felvételre és/vagy transzlokációra utal. *Arabidopsis*-ban a szemtermés ásványi összetételét befolyásoló QTL-ek térképezése azt mutatta, hogy a legtöbb ásványi elem koncentrációját eltérő lókuszok befolyásolják (Vreugdenhil és mtsai., 2004). A 25 azonosított QTL régióból 23-hoz a feltételezett géneket is megnevezték (Vreugdenhil és mtsai., 2004), melyek membránkötött kation transzporterek (Mäser és mtsai., 2001; Delhaize és mtsai., 2003; Axelsen és Palmgreen, 2001), vas ion homeosztázist befolyásoló ferritin gének (Petit és mtsai., 2001), és a NAS gén volt, mely a nikociánamin szintéziséért felelős (Suzuki és mtsai., 1999). Búzánál még nem térképeztek fémion transzporter géneket, de az általunk azonosított QTL-ek feltételezhetően szintén ezen fehérjéket kódoló géneket, ill. egyéb, fémionhomeosztázist befolyásoló gént kódolnak. A

fémiontranszporterek a növények elemtartalmára gyakorolt hatását igazolták: árpában expresszálatott *Arabidopsis* Zn transzporter (*AtZIP1*) a teljes növény – beleértve a szemtermést is – Zn és Fe koncentrációját megduplázta (Ramesh és mtsai., 2004).

A kontroll körülmények között nevelkedett növények esetében a hajtás nehézfémion koncentrációk szoros pozitív korrelációt mutattak, így ha a növény hajtásában magas a Cu-koncentráció, akkor magas hajtás Fe-, Zn- és Mn-koncentrációkat is várhatunk. Ez a megfigyelés felgyorsíthatja a kedvezőbb hajtás és szemtermés ásványi összetételű búza nemesítését.

Az általunk elvégzett talajos kísérleti rendszerben a vizsgált vonalak hajtás Fe-, Zn- és Mn-koncentrációja lecsökkent a Cu-kezelés hatására, mely a Cu és egyéb fémek közötti kompetíció, illetve a felvétel vagy transzlokáció megzavarása lehet az oka. Lanaras és mtsai. (1993) a hajtás Cu- és Zn-koncentrációk növekedését írták le természetesen rézben gazdag talajon termesztett búza vizsgálata alapján, de a hajtás Fe-koncentrációk nem változtak a normális talajon nevelkedett növényekhez képest. Vízkultúrában nevelt búza fajtáknál a többlet Cu hatására a hajtás Fe-tartalmak lecsökkentek (Tari és mtsai., 2002). A különböző kísérletekben kapott eltérő hatás oka az eltérő nevelési környezet, az eltérő genotípusok alkalmazása, vagy az eltérő fejlődési fázisokban elvégzett vizsgálatok lehetnek.

5.5. Réztoleráns búzafajták felhasználása

5.5.1. Rézszenyezett talajok hasznosítása

Az érésig nevelt réztoleráns 'CS' és érzékeny 'Synthetic R93' terméseredményeinek vizsgálata megmutatta, hogy a toleráns 'CS' még közel 1.5 t/ha termést hoz (becsült érték), amikor az érzékeny fajta már csak alig több, mint 300 kg/ha termésre képes. A 'CS' átlagos hajtáshossza 76 cm-ről 57 cm-re csökkent a rézkezelés hatására, így a termés begyűjtése is megoldható még. Az ezerszemtömegek nem csökkentek jelentősen, így – amennyiben a részletes beltartalmi vizsgálatok alapján a minőség megfelelő – akár humántáplálkozásra is alkalmas lehet a termés. Erre minden esély megvan, hiszen az 'ITMI' populáció RIL-jeinek hajtás Cu-koncentráció vizsgálata alapján 1000 mg/kg Cu-kezelés hatására a Cu-koncentrációk átlagosan 1.75-ször voltak magasabbak, mint a kontroll növényeknél, ráadásul a rézzel szemben toleránsabb RIL-eknél az átlagnál alacsonyabb Cu-koncentrációkat mértünk. Mivel a hajtás ásványi elem koncentrációja korrelál a szemtermés ásványi elem koncentrációjával (Welch, 1986), így a szemtermésben sem várhatunk a kontroll értékek kétszeresénél magasabb Cu-koncentrációt. Az ABD genomú búza szemtermésének Cu-koncentrációja szántóföldi körülmények között 3.0-11.3 mg/kg között változik (Ghanbari és

Mamesh, 1971; Bálint és mtsai., 2001), amelynek megduplázása még nem jelent egészségügyi kockázatot. A magas liszt Cu-koncentráció kialakulásának veszélyét az is csökkenti, hogy a búzaszem ásványi anyagainak mintegy 75%-a őrléskor eltávolított héj- és aleuronrétegben, 20 %-a magbelsőben, és mintegy 5 %-a csíraban található (Czerniejewski és mtsai., 1964). A fehérlisztben a rézkoncentráció emiatt a teljes szemben mért értéknek mindössze a harmada (Peterson és mtsai., 1983).

5.5.2. Rézszennyezett talajok megtisztítása

Az 'ITMI' populáció rekombináns beltenyésztett vonalainak vizsgálata alapján a búza nehézfém-szennyezett talajok fitoremediációjára nem alkalmas, mert a hajtással a talajból eltávolítható Cu-mennyisége a Cu-kezelt növényeknél nem sokkal haladja meg a normál talajon nőtt növények összes Cu-tartalmát - így összességében alacsony szinten maradt. Ennek oka az volt, hogy a jobb hajtásakkumuláló rekombináns vonalaknak a biomasszaprodukciója kisebb volt, mint a hajtásukban a rézet kevésbé akkumulálóké. Ez egybevág a fém-hiperakkumuláló növényeknél megfigyelt általános jelenséggel, mely szerint a nehézfémakkumuláló fajoknak általában kicsi a biomassza produkciója (Maywald és Weigel, 1997). Az általunk vizsgált gabonagenotípusoknál kiemelkedően magas réztartalmakat szintén csak a legkisebb biomasszaprodukciójú *Aegilops* (kecskebúza) fajoknál mértük. A legnagyobb hajtás Cu-koncentrációt a búza D-genomjának diploid donor fajánál, az *Ae. tauschii*-nál figyeltük meg (171.3 mg/kg Cu), míg a búzafajoknál ez az érték 49.2-73 mg/kg között változott. Ez felveti a lehetőségét, hogy hajtás akkumuláló genotípusok nemesítéséhez az *Ae. tauschii* a hajtás Cu-akkumulációt befolyásoló gének potenciális forrása lehet.

Kelát indukált fitoextrakcióval valószínűleg növelhető a búza által a talajból eltávolítható Cu-mennyisége: az Pb esetében ugyanis megfigyelték, hogy a szulfát és EDTA talajhoz történő adagolása megnövelte a szennyezett talajon nőtt búza Pb-felvételét, és a Pb hiperakkumulálását (1095 mg/kg Pb a hajtásban) eredményezte (Cui és mtsai., 2004).

5.6. A réztolerancia feltételezett mechanizmusa

5.6.1. Az 5-ös homeológ csoport szerepe

Mind szubsztitúciós analízissel, mind genetikai és fizikai térképezéssel több Cu-toleranciát befolyásoló kromoszómát illetve lókuszt is sikerült azonosítanunk. Néhány kromoszómán független genetikai anyagokkal is sikerült hatást megfigyelnünk:

- 3D:** 'CS'/'CD' szubsztitúciók, 'CS'/'*Ae. tauschii*' introgressziók,
5A: 'CS'/'CD' szubsztitúciók, búza/rozs 5R(5A) szubsztitúció,
'CS(Ch5A)' x 'CS(*TspA*)' SCR-ek, 'CS' 5AL deléciók,
5B: 'CS'/'CD' szubsztitúciók, 'CS' x 'CS(Ch5B)' SCR-ek, 'ITMI' RIL-ek,
5D: 'CS'/'CD' szubsztitúciók, 'CS' 5DL deléciós vonalak, 'ITMI' RIL-ek,
7D: 'CS'/'CD' szubsztitúciók, 'ITMI' RIL-ek.

Az 5-ös homeológ csoport szerepe meghatározónak tűnik, ami nem meglepő, hiszen a *Triticeae* tribuszban elsősorban ezeken a kromoszómákon lokalizálódnak az ásványi stresszek (Forster és mtsai., 1990; Forster, 1992), illetve általánosan az abiotikus stresszek tolerálásában fontos gének (Cattivelli és mtsai., 2002; Galiba, 2002). A fagytűrést (Sutka és Snape, 1989; Galiba és mtsai., 1995; Snape és mtsai., 1997; Sutka és mtsai., 1999), vernalizációs igényt (Galiba és mtsai., 1995; Snape és mtsai., 1997; Sutka és mtsai., 1999) és virágzási időt (Tóth és mtsai., 2003) befolyásoló fontos gének szintén az 5-ös csoport kromoszómáin lokalizálódnak, melyek pleiotróp módon befolyásolhatják a az ásványi stresszek tolerálásában fontos géneket. Forster (1988) a sótűrés vizsgálata alapján ezt azzal indokolta, miszerint a koraiság egy előnyös karakter magas sókoncentrációjú környezetben, mivel a növény így képes befejezni az életciklusát mielőtt a komolyabb károsodások bekövetkeznének. Ezt alátámasztja, hogy a főbb virágzás idejét meghatározó gének pleiotróp hatásúak a Na^+ és K^+ akkumulációra, és szorosan kapcsolatosak lehetnek a só toleranciáért felelős génekhez (Forster, 1992). Az 5-ös homeológ csoport kromoszómái befolyásolják a szabad aminosav- (Galiba és mtsai., 1992), poliamin- (Galiba és mtsai., 1993), és szénhidrát- (Vágújfalvi és mtsai., 1999) akkumulációt is, melyek fontos szerepet töltenek be az abiotikus stresszek elleni védekezésben (Galiba, 2002).

5.6.2. Védekezés a kizárási mechanizmussal

A fémstresszel szembeni védekezésben két alapvető stratégia, a kizárási ill. a tolerancia stratégia játszhat szerepet (Maywald és Weigel, 1997). A Cu-tolerancia és hajtás Cu-akkumuláló képesség között az 'ITMI' térképezési populációnál megfigyelt szignifikáns negatív korreláció alapján a toleráns genotípusok fokozott Cu-toleranciájában a kulcsszerepet a Cu-felvétel, illetve transzlokáció korlátozása játssza (kizárási mechanizmus). A gabonafélék sótűrésének részletes vizsgálata is azt mutatta, hogy azok a genotípusok toleránsak, melyek hatékonyabban tudják kizárni a hajtásukból a nátriumot. A K^+/Na^+ diszkriminációt a 4D

kromoszómán elhelyezkedő lókusz (*Kna1*) szabályozta (Dubcovsky és mtsai., 1996). A búza B-toleranciájának kialakításában szintén a kizárási mechanizmus játssza a döntő szerepet, a B-felvételt egy, a 7B kromoszómán elhelyezkedő lókusz kontrollálta (Jefferies és mtsai., 2000). Cu-toleráns és Cu-érzékeny *Elsholtzia argyi* ökotípusok vizsgálata szintén azt mutatta, hogy rézkezelés hatására a toleráns genotípusnál a gyökérből hajtásba történő transzlokáció kisebb mértékű, ezáltal a hajtás Cu-koncentrációját alacsonyabb szinten tudja tartani (Jiang és mtsai., 2004). A Cu-akkumuláló képességet az 'ITMI' búza térképezési populációnál az 5AL kromoszómán lévő QTL befolyásolta, és az 5-ös homeológ kromoszómák hajtás Cu-tartalmakra gyakorolt hatását is leírták (Schlegel és Cakmak, 1997). A kizárási mechanizmus egyik módja lehet a szabad nehézfémionok rizoszférában történő lekötése növény által kiválasztott kelátorokkal (főleg szerves savakkal). A búza gyökerek citrát és malát kiválasztását Cu-kezelés és Al-kezelés hatására már megfigyelték (Nian és mtsai., 2002), de a szerepük a nehézfémek elleni toleranciában még nem egyértelmű. Kizárási mechanizmus másik módja lehet Cu-specifikus influx pumpák csökkentett, illetve efflux pumpák fokozott aktivitása. A fokozott fémion-efflux által elért fémtoleranciát prokariótáknál kiterjedten vizsgálták (Silver és Misra, 1988). Hiperakkumuláló növények vizsgálata azt mutatta, hogy az ioncsatornák fokozott aktivitása elsősorban a fokozott hajtásakkumulációért – egész pontosan a xilém feltöltésért (*xylem loading*) –, és nem a fokozott toleranciáért felelős (Papoyan és Kochian, 2004). A toleranciáért feltehetően egy olyan fehérje fokozott expressziója volt felelős, mely a citoplazmában képes lekötni a nehézfémeket (Papoyan és Kochian, 2004). A nehézfémtranszporterek fokozott expresszáltatása elsősorban a kedvezőbb ásványi összetételű, illetve fitoremediációs célú felhasználásra alkalmas növények szelektálásában játszhat szerepet, amit a már említett árpaiban expresszáltatott *Arabidopsis* Zn transzporter hatása is igazolt (Ramesh és mtsai., 2004).

5.6.3. Védekezés a tolerancia mechanizmussal

A Cu-toxicitás által okozott oxidatív stressz kivédésében a biokémiai detoxifikáló rendszer is szerepet játszhat, melynek enzimatisz komponensei közé tartozik a szuperoxid-dizmutáz. A Cu/ZnSOD géneket búzában a 7-es homeológ kromoszómák hosszú karjára térképezték (Wu és mtsai., 1999), mi a 7-es homeológ kromoszómák közül csak a 7D kromoszóma rövid karján találtunk a Cu-toleranciát befolyásoló kis hatást. Ez az enzim ezáltal – ha szerepet is játszik a védekezésben – csak kis mértékben lehet felelős a toleranciáért. Cu stresszel kapcsolatban még nem sikerült megfigyelni, hogy az antioxidatív enzimek fokozott működése egyértelmű szerepet játszana a védekezésben (Schützendübel és

Polle, 2002).

A Cu-toleranciában a fémkötő vegyületek – metallotioneinek (MTs), fitokelatinok (PCs), ill. szerves savak szerepe sem egyértelműen bizonyított. MT szerű fehérje transzkriptek mennyisége ugyanis bizonyos fajoknál Cu-ionok hatására csökkenhet (*Mimulus guttatus* - De Miranda és mtsai., 1990; *Glycine max* cv. Saxa - Kawashima és mtsai., 1991), illetve növekedhet is (*Arabidopsis thaliana* - Zhou és Goldsbrough, 1994). *Arabidopsis*-nál az *MT2* gén szerepét a Cu-toleranciában egyértelműen bizonyították (Murphy és Taiz, 1995a, b). Az MT géneket kódoló régiók egyszeres kópiában fordulnak elő a hexaploid búza 1A, 1B és 1D kromoszómájának hosszú karján (Gale személyes közlése, idézve: Kawashima és mtsai., 1992). Az 1A kromoszóma hosszú karján megfigyeltünk egy kis, Cu-toleranciát befolyásoló hatást, ami korántsem biztos azonban, hogy MT-szerű gének expressziójának köszönhető.

A búza Cu-toleranciájában a fitokelatinok (PCs) szerepe sem igazolt, bár a cDNS-ek vizsgálatával igazolták, hogy a *TaPCSI* (búzából izolált cDNS) a Cd^{2+} toleranciában szerepet játszik (Clemens és mtsai., 1999). Ez a gén a fitokelatin-szintáz (PCS) enzimet kódolja, mely a glutationból (GSH) történő fitokelatin szintézisért felelős. Rézstressz hatására emiatt a GSH szint lecsökkenhet (pl: *Silene cucubalus* – De Vos és mtsai., 1992; *Arabidopsis thaliana* – Xiang és Oliver, 1998), mely a GSH fitokelatin szintézishez történő felhasználásának a következménye (Zenk, 1996; Mehra és Tripathi, 1999). A GSH mennyiségét a cisztein koncentráció, valamint a γ -glutamil-cisztein (γ -EC)-szintetáz aktivitása határozza meg, mely a GSH szintézist katalizálja a γ -EC prekursorból. Rézkezelt relatív toleráns búzafajták gyökerében a cisztein mennyisége megnőtt, egyedül a legérzékenyebb genotípusnál nem volt ez megfigyelhető (Tari és mtsai., 2002). Emiatt ennél a fajtánál a γ EC, a GSH, valamint egy GSH homológ tripeptid, a hmGSH koncentrációja is alacsonyabb volt a gyökérben (Tari és mtsai., 2002). Ezek a vizsgálatok ugyan a fitokelatinok szerepét közvetlenül nem támasztják alá, de a GSH védekezésben betöltött szerepét jelzik.

A nehézfém-tolerancia pontos mechanizmusa még nem teljesen tisztázott a növényeknél. Felgyorsíthatja ezeket a kutatásokat azoknak a természetesen nehézfém-toleráns és akkumuláló fajoknak a vizsgálata, melyek közeli rokonának genomját már szekvenálták. Intenzíven vizsgálják pl. az *Arabidopsis thaliana* rokonát, az *Arabidopsis halleri*-t, mely természetesen előforduló Zn-toleráns és Zn-hiperakkumuláló faj (Drager és mtsai., 2004). A búza nehézfém-toleranciájának ill. nehézfém-akkumulálásának vizsgálatát így várhatóan az egyszerűbb genom-szerveződésű árpával elvégzett vizsgálatok (Ramesh és mtsai., 2004) is

jelentősen segíthetik.

6.1. ÖSSZEFOGLALÁS

Bálint András Ferenc

Búza réztoleranciáját és hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációját befolyásoló lókuszok térképezése

A réz az egyik legfontosabb esszenciális növényi tápelem, nagy koncentrációban azonban toxikus, károsítja a növények optimális fejlődését, jelentős termésvesztést okozva így a termesztett növényeinknél. Réztoleráns búzafajták termesztésével a termésvesztés csökkenthető, és hajtásukban a rézet nagy koncentrációban akumuláló toleráns fajták a szennyezett talajok remediációjára (*phytoremediation*) is felhasználhatók.

A gabonafélék szemterméséből készült élelmiszerek az összes előállított élelmiszer 50 %-át teszik ki, azonban a közönséges búza (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) szemtermése az optimálishoz képest nagyon kevés esszenciális Fe-t és Zn-t, valamint szintén kevés Cu-t és Mn-t tartalmaz. Így bár a nehézfém-szennyezett talajokon termesztett növényeknél a fogyasztásra szánt növényi részek nehézfém-tartalmát alacsonyan kell tartani, azonban nem szennyezett talajokon termesztett növények esetében bizonyos elemekből (Fe, Mn, Cu, Zn) a szemtermés ásványi elem-koncentrációjának a növelése lenne kívánatos. Amennyiben egy növény hajtásában a Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációk magasak, úgy a szemtermésében is magas mikroelem koncentrációk várhatók. Ezáltal a hajtás mikroelem-tartalmakat befolyásoló QTL-ek azonosításával kedvezőbb szemtermés mikroelem-összetételű búzafajták marker alapú szelekciója (*Marker Assisted Selection*, MAS) válhat lehetővé.

Munkám célja a búza Cu-toleranciáját és a hajtás Cu-, Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat meghatározó kromoszómák és lókuszok azonosítása volt.

Az első lépésben 27 *Triticinae* szubtribuszba tartozó gabonagenotípus tesztelését végeztük el vízkultúrában. A réz hatására a biomasszaprodukcióban bekövetkező csökkenés, illetve a fluoreszcencia indukciós paraméter változása alapján a *Secale* (rozs) fajok voltak a legtoleránsabbak, és sikerült viszonylag toleráns és érzékeny hexaploid búza genotípusokat is azonosítanunk.

A következő lépésben a 'Chinese Spring' (recipiens, toleráns)/'Cappelle Desprez' (donor, érzékeny) szubsztitúciók tesztelésével azonosítottuk a Cu-toleranciát befolyásoló kromoszómákat (3D, 5A, 5B, 5D, 6B és 7D). Az 5-ös homeológ kromoszómák szerepét

búza/rozs szubsztitúciók réztoleranciájának tesztelésével is igazoltuk.

A Cu-toleranciát befolyásoló QTL-ek és lókuszok meghatározása céljából leteszteltük 3 térképezési populáció ('Opata85' x 'Synthetic' ('ITMI' térképezési populáció), 'CS(Ch5A)' x 'CS(*Tsp*5A)', 'CS' x 'CS(Ch5B)') és az 5A és 5D kromoszóma hosszú karjára deléciós vonalak Cu-toleranciáját. QTL és deléciós analízissel a Cu-toleranciát befolyásoló nagy hatású QTL-t azonosítottunk az 5D kromoszóma hosszú karján, míg kisebb hatású lókuszokat az 1AL, 2DS, 4AL, 5AL, 5BL és 7DS kromoszómákon. 'Chinese Spring'-*Aegilops tauschii* introgressziós vonalak tesztelésével a 3DS kromoszómán is sikerült egy Cu-toleranciát befolyásoló lókuszt azonosítani. Mindezek a vizsgálatok – más kutatócsoportok eredményeivel összhangban - a Cu-tolerancia poligénikus kontrollját támasztották alá.

Az 'Opata85' x 'Synthetic' búza térképezési populáció vizsgálata alapján a hajtás mikroelem-koncentrációkat eltérő QTL-ek befolyásolják, mely szigorúan fémspecifikus felvételre és/vagy transzlokációra utal. A kontroll növényeknél szignifikáns pozitív korrelációt figyeltünk meg az egyes hajtás mikroelem-koncentrációk között, így ha egy genotípusnak kiugróan magas a hajtás Cu-koncentrációja, akkor magasabb hajtás Fe-, Mn- és Zn-koncentrációkat is várhatunk – ez a megfigyelés a kedvezőbb szemtermés mikroelem-összetételű fajták nemesítése során jelent nagy segítséget.

A hajtás Mn- és Zn-koncentrációkat befolyásoló QTL-ek a 3BL és 3AL kromoszómákon lokalizálódtak. A Zn-koncentrációkat Cu-kezelt körülmények között a 7A kromoszómán elhelyezkedő lókusz kontrollálta. A Cu-kezelt növények Fe-koncentrációját befolyásoló QTLt a 3B kromoszóma centromerikus régiójában, míg Cu-koncentrációját befolyásoló lókuszt az 1BL kromoszómán azonosítottuk. Az 5AL kromoszómán meghatározott lókusz a hajtás Cu-akkumulációt befolyásolta.

Az 'Opata85' x 'Synthetic' térképezési populáció rekombináns vonalainak elemtartalom vizsgálata megmutatta, hogy a toleráns vonalak kisebb mértékben akkumulálják hajtásukban a rézet a Cu-szennyezett talajból. Mindez arra utal, hogy a búza Cu-toleranciájában a nehézfémfelvétel ill. a gyökérből hajtásba történő transzlokáció korlátozása a védekezés alapja.

A Cu-kezelt talajon érésig nevelt toleráns és érzékeny genotípusok vizsgálata megmutatta, hogy a Cu-toleráns búzafajta az érzékennyel ellentétben még 1500 mg/kg rézkoncentrációjú talajon is képes termést hozni. Mindez azt jelzi, hogy a toleráns búzafajták termesztésével rézszenyezett talajokon a termésveszteség csökkenthető.

Az 'ITMI' populációval elvégzett vizsgálatok alapján a búza Cu-szennyezett talajok fitoremediációjára nem tűnik alkalmasnak, mivel a Cu-toleráns vonalaknak kicsi a Cu-

akkumuláló képessége, ezáltal a hajtással a talajból eltávolítható Cu-mennyisége mind a kontroll, mind a Cu-kezelt talajon nevelt növények esetében alacsony szinten marad.

Az általunk azonosított Cu-toleranciát és hajtás ásványi összetételt meghatározó lokuszokkal kapcsolatosan elhelyezkedő PCR-alapú markerek nemesítésben történő sikeres felhasználása felgyorsíthatja a Cu-toleráns és kedvezőbb hajtás ásványi összetételű búza genotípusok szelekcióját, csökkentve ezáltal a kedvezőbb tulajdonságú fajták előállításának költségeit.

6.2. SUMMARY

András Ferenc Bálint

Mapping of the loci affecting Cu-tolerance and the shoot Cu-, Fe-, Mn- and Zn-concentrations by wheat

Copper (Cu) is an essential plant micronutrient, which can be phytotoxic if present in soil in high concentrations resulted in yield loss by cultivated plants. Selection of more resistant genotypes could provide gene sources for breeding of Cu-tolerant wheat, and those tolerant varieties which can accumulate high concentration of Cu in their shoots, could be directly used for the extraction of the metals from the polluted soils.

Beside the toxicity of the heavy metals, the micronutrient malnutrition is also a serious problem worldwide. Cereal-based foods have great importance in the compensation of micronutrient deficiency, because 50 % of the foods produced worldwide is made up of cereal grains. Common wheat (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) often contains very low amounts of essential iron and zinc, and to lesser extent of copper and manganese. Therefore, an increase in micronutrient concentrations is an important criterion in the breeding of wheat varieties. When there are higher Cu-, Fe-, Mn- and Zn-concentrations in the shoot tissues, also higher mineral concentrations in the grains can be expected. Therefore, mapping of QTLs determining higher shoot micronutrient concentrations could be used for the marker assisted breeding of wheat varieties with a better nutritional value.

The aims of our work reported here were to determine the chromosomes and loci which are affecting the Cu-tolerance in wheat. Additionally, we wanted to determine the loci having an influence on the heavy metal concentrations of the shoots.

In the first step, twenty-seven different cereal accessions belonging to the *Triticinae* subtribe were screened for Cu-tolerance in hydroponics. Based on the shoot dry mass reduction and the decreased value of the F_v/F_m fluorescence induction parameter the *Secale* (rye) species were the most tolerant ones, and relatively tolerant and sensitive common wheat cultivars were also identified.

In the second step, the Cu-tolerance of the 'Chinese Spring' (recipient, Cu-tolerant)/'Cappelle Desprez' (donor, Cu-sensitive) wheat substitution lines was screened in

greenhouse using control and Cu-treated soils. We found that chromosomes 3D, 5A, 5B, 5D, 6B and 7D have an effect on Cu-tolerance. The role of homoeologous group 5 in the Cu-tolerance was reinforced with the testing of wheat rye/substitution lines.

In order to determine the QTLs and loci influencing Cu-tolerance 3 different wheat mapping populations ('Opata85' x 'Synthetic' ('ITMI' mapping population), 'CS(Ch5A)' x 'CS(*Tsp5A*)', 'CS' x 'CS(Ch5B)') and homozygous deletion lines for 'Chinese Spring' 5AL and 5DL were screened. The two single chromosome recombinant populations were genotyped using microsatellite (SSR) markers, as well. In addition, QTLs having an influence on the shoot Cu-, Fe-, Mn- and Zn-concentrations under control and Cu-treated environments were also mapped. Major QTL for Cu-tolerance was found on the chromosome 5DL. Slighter effects were mapped on the chromosomes 1AL, 2DS, 4AL, 5AL, 5BL and 7DS, confirming the previously suggested polygenic character of the Cu-tolerance in wheat. Testing the Cu-tolerance of the 'Chinese Spring'- *Aegilops tauschii* introgression lines an additional locus affecting Cu-tolerance was mapped on the short arm of chromosome 3D.

The concentrations of the investigated metals in the shoots are affected by different QTLs, which suggest the strongly metal specific uptake and/or translocation of these elements. In the control plants there was a significant positive correlation among the shoot metal concentrations, therefore, if a genotype has a higher shoot Cu-concentration, higher Fe-, Mn- and Zn-concentrations could be also expected.

QTLs influencing the shoot Mn- and Zn-concentrations were found on the chromosome 3BL and 3AL, respectively. The shoot Zn-concentrations of the Cu-stressed plants were affected by the locus on the chromosome 7A. The centromeric region on the chromosome 3B plays a role in the regulation of the shoot Fe-concentration in the Cu-stressed plants. Under Cu-stress the QTL affecting shoot Cu-concentrations was found on the chromosome 1BL. On the chromosome 5AL a locus influencing the Cu-accumulation ability of wheat from Cu-polluted soils was determined.

The determination of the shoot Cu-concentration by the RILs of the 'Opata85' x 'Synthetic' wheat mapping population revealed that lines with better tolerance accumulate lower amount of Cu in their shoots. It suggests that the basic mechanism in Cu-tolerance by wheat could be the restriction of Cu uptake from the soil, or the restricted rate of the translocation from the root to the shoot.

Results obtained from growth and yield data of the Cu-tolerant and Cu-sensitive wheat genotypes in artificial Cu-enriched soil suggest that the tolerant line in contrast to the

sensitive one could have relatively good yield, indicating the usefulness of Cu-tolerant wheat by the reducing the yield loss on Cu-polluted soils.

The use of wheat for the phytoremediation of Cu-polluted soils seems not to become possible, because the Cu-tolerant plants have a lower shoot Cu-accumulation ability, therefore, differences between the total shoot Cu-content (removable Cu from the soil) of the control and Cu-treated plants only small.

The successful utilization of the determined PCR-based markers indicating Cu-tolerance can speed up the selection of Cu-tolerant wheat genotypes and decrease the costs when developing new cultivars with better tolerance.

6.3. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Galiba Gábornak a szakmai segítségéért, tanácsaiért, irányításáért.

Köszönöm Dr. Andreas Börner segítségét (Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Ag. Genebank, Gatersleben, Németország), aki németországi tanulmányutaim során szakmai munkámat irányította, jelentősen hozzájárulva ezzel ezen dolgozat elkészüléséhez.

Külön köszönettel tartozom Dr. Tari Irma tanárnőnek, aki nem csak tudományos diákköri és szakdolgozati munkám során látott el hasznos szakmai és baráti tanácsokkal, de doktori tanulmányaim alatt is segített és támogatott.

Köszönöm Dr. Sutka József és Dr. Kovács Géza hasznos tanácsait, a tesztelések során nyújtott segítségét, és a rendelkezésemre bocsátott genetikai alapanyagokat, és köszönöm a MTA MGKI Genetikai Osztályán dolgozó munkatársaim támogatását, tanácsait, biztatását.

A Szegedi Tudományegyetem Növényélettani Tanszék minden dolgozójának, különösen Dr. Erdei László professzor úrnak szintén köszönettel tartozom a tanszéken elvégzett ásványi összetétel vizsgálatok során nyújtott segítségért, támogatásért.

Köszönöm Dr. Oxana Dobrovolskaya-nak és Dr. Marion Röder-nek a genetikai térképezés elsajátításában nyújtott segítségüket, továbbá a gaterslebeni intézet Génbankjában dolgozó minden munkatársam segítségét, tanácsait.

Köszönettel tartozom Dr. Vágújfalvi Attilának a dolgozat alapos átnézéséért, és a minden részletre kiterjedő észrevételekért.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- Akkaya, M. S., Bhagwat, A. A., Cregan, P. B. (1992) Length Polymorphisms of simple sequence repeat in soybean. *Genetics* 132: 1131-1139.
- Angelone, M., Bini, C. (1992) Trace elements concentrations in soils and plants of western Europe. In: Adriano, D. C. (szerk.) *Biogeochemistry of trace metals*. Boca Raton, FL, Lewis Publishers, 19-60.
- Aniol, A., Gustafson, J. P. (1984) Chromosome location of genes controlling aluminium tolerance in wheat, rye and triticale. *Can J Genet Cytol* 26: 701-705.
- Aniol, A. (2004) Chromosomal location of aluminium tolerance genes in rye. *Plant Breeding* 123: 132-136.
- Arnesano, F., Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Molteni, E., Huffman, D. L., O'Halloran, T. V. (2002) Metallochaperones and metal-transporting ATPases: a comparative analysis of sequences and structures. *Genome Research* 12: 255-271.
- Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 601-639.
- Asher, C. J. (1991) Beneficial elements, functional nutrients, and possible new essential elements. In: *Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed., Mortvedt, J. J., Cox, F. R., Shuman, L. M., Welch, R. M. (szerk.), Soil Science Society of America, Madison, WI, 703-723.
- Axelsen, K. B., Palmgreen, M. G. (2001) Inventory of the superfamily of P-type ion pumps in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 126: 696-706.
- Bachthaler, G., Diez, T., Stritesky, E. (1974) Wachstumschäden durch hohe Kupfergehalte im Boden eines aufgelassenen Hopfengartens. *Hopfen-Rundschau* 21:496-499.
- Bálint, A. (1999) Effects of copper supply on the mineral accumulation and physiological parameters of copper toxicity in hexaploid wheat/Réz hatása búzafajták ásványi elem akkumulációjára és a réztoxicitást jellemző fiziológiai paraméterekre. XXIV. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Debrecen., p. 117.
- Bálint, A. F., Kovács, G., Sutka, J. (2001) Comparison of the Cu, Zn, Fe, Ca and Mg contents of the grains of wild, ancient and cultivated wheat species. *Cereal Res Commun* 29: 375-382.
- Bornemissza, E. (1985) Középamerikai talajtani problémák és gyakorlati vonatkozásuk. *Agrokémia és Talajtan* 34: 185-190.
- Börner, A., Schumann, E., Fürste, A., Cöster, H., Leithold, B., Röder, M. S., Weber, W. E. (2002) Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 105: 921-936.
- Brooks, A., Collins, J. C., Thurman, D. A. (1981) The mechanism of zinc tolerance in grasses. *J Plant Nutrition* 3: 695-705.
- Brown, D. J., DuPont, F. M. (1989) Lipid composition of plasma membranes and endomembranes prepared from roots of barley (*Hordeum vulgare* L.). Effects of salt. *Plant Physiol* 90: 955-961.
- Bryan, G. J., Collins, A. J., Stephenson, P., Orry, A., Smith, J. B. és mtsai. (1997) Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid bread wheat. *Theor Appl Genet* 94: 557-563.
- Budzianowski, G., Wos, H. (2004) The effect of single D-genome chromosome on aluminium tolerance of triticale. *Euphytica* 137: 165-172.
- Bussler, W. (1981) Physiological functions and utilization of copper. In: *Copper in Soils and Plants*. Loneragan, J. F., Robson, A. D., Graham, R. D. (szerk.), Academic Press, Sydney, 213-234.

- Butler, W. L., Kitajima, M., (1975) Fluorescence quenching in photosystem II of chloroplast. *Biochim Biophys Acta* 376: 116-125.
- Cattivelli, L., Baldi, P., Crossatti, C., Di Fonzo, N., Faccioli, P., Grossi, M., Mastrangelo, A. M., Pecchioni, N., Stanca, A. M. (2002) Chromosome regions and stress-related sequences involved in resistance to abiotic stress in *Triticeae*. *Plant Mol Biol* 48: 649-665.
- Chaney, R. L., Li, Y. M., Angle, J. S., Brewer, E. P., Saunders, J. P., Baker, A. J. M. (1998) Converting Metal Hyperaccumulator Wild Plants into Commercial Phytoremediation Systems: Approaches and Progress. In: Banúelos, G. S., Terry, N. (Eds.), *Proceedings of the Fourth International Conference on Biogeochemistry of Trace Elements*, Berkeley, CA, pp. 623-624.
- Chao, S. P., Sharp, P. J., Worland, A. J., Warham, E. J., Koebner, R. M. D., Gale, M. D. (1989) RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theor Appl Genet* 78: 495-504.
- Chardonens, A. N., Koevoets, P. L. M., van Zanten, A., Schat, H., Verkleij, J. A. C. (1999) Properties of enhanced tonoplast zinc transport in natural selected zinc-tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Physiol* 120: 779-785.
- Chemistry and the Atmosphere* (1966) Chem. and Eng. News, 44:3A., idézve: Csathó, P. (1994) *A környezet nehézfém szennyezettsége és az agrártermelés*. Tematikus szakirodalmi szemle. MTA Talajtani kutatóintézete és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest, 1994.
- Churchill, G. A., Doerge, R.W. (1994) Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- Ciscato, M., Valcke, R., Van Loven, K., Clijsters, H., Navari-Izzo, F. (1997) Effects of in vivo copper treatment on the photosynthetic apparatus of two *Triticum durum* cultivars with different sensitivity. *Physiol Plant* 100: 901-908.
- Clarke, S. E., Stuart, J., Sanders-Loehr, J. (1987) Induction of siderophore activity in *Anabena* spp. and its moderation of copper toxicity. *Appl Environ Microbiol* 53: 917-922.
- Clemens, S., Kim, E. J., Neumann, D., Schroeder, J. I. (1999) Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast. *EMBO J* 18: 3325-3333.
- Cobbett, C. S. (2000) Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol* 123: 825-832.
- Condit, R., Hubbell, S. (1991) Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome* 34: 66-71.
- Coomes, A. J., Phipps, D. A., Lepp, N. W. (1977) Uptake patterns of free and complexed copper ions in excised roots of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Zephyr). *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 82: 435-439.
- Csathó, P. (1994) *A környezet nehézfém szennyezettsége és az agrártermelés*. Tematikus szakirodalmi szemle. MTA Talajtani kutatóintézete és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest, 1994.
- Contamination of the environment with heavy metals and its consequences on agricultural production* – A throughout literature survey in Hungarian (A review). RISSAC of the Hungarian Academy of Sciences, H-1525 Budapest, P.O.Box 35.
- Cui, Y. S., Wang, Q. R., Dong, Y. T., Li, H. F., Christie, P. (2004) Enhanced uptake of soil Pb and Zn by Indian mustard and winter wheat following combined soil application of elemental sulphur and EDTA. *Plant Soil* 261: 181-188.
- Culotta, V. C., Klomp, L. W., Strain, J., Casareno, R. L., Krems, B., Gitlin, J. D. (1997) The copper chaperone for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 272: 23469-23472.
- Cumming, J. R., Taylor, G. J. (1990) Mechanisms of metal tolerance in plants: physiological adaptations for exclusion of metal ions from the cytoplasm. In: Alscher, R. G.,

- Cumming, J. R. (szerk.), *Stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms*. Wiley-Liss. Inc., New York, 329-356.
- Cumming, J. R., Tomsett, A. B. (1992) Metal tolerance in plants: signal transduction and acclimation mechanisms. In: Adriano, D. (szerk.) *Biogeochemistry of trace metals*, Lewis Publ., Chelsea, MI., 329-364.
- Curie, C., Panaviene, Z., Loulergue, C., Dellaporta, S. L., Briat, J.-F., Walker, E. L. (2001) Maize *yellow stripe 1* encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature* 409: 346-349.
- Czerniejewski, C. P., Shank, C. W., Bechtel, W. G., Bradley, W. B. (1964) The minerals of wheat, flour and bread. *Cereal Chem* 41: 65-72.
- Daigger, L. A., Sander, D. M., Peterson, G. A. (1976) Nitrogen content of winter wheat during growth and maturation. *Agron J* 68: 815-818.
- Daniel, K. G., Harbach, R. H., Guida, W. C., Dou, Q. P. (2004) Copper storage diseases: Menkes, Wilson's and cancer. *Frontiers in Bioscience* 9: 2652-2662.
- De Boer, A. H., Wegner, L. H. (1997) Regulatory mechanism of ion channels in xylem parenchyma cells. *J Exp Bot* 48: 441-449.
- Delas, J. (1963) The toxicity of copper accumulating in soils. *Agrochimica* 7: 258-288.
- Delhaize, E., Kataoka, T., Hebb, D. M., White, R. G., Ryan, R. R. (2003) Genes encoding proteins of the cation diffusion facilitator family that confer manganese tolerance. *The Plant Cell* 15: 1131-1142.
- De Miranda, J. R., Thomas, M. A., Thurman, D. A., Tomsett, A. B. (1990) Metallothionein genes from the flowering plant *Mimulus guttatus*. *FEBS Lett* 260: 277-280.
- De Vos, C. H. R., Schat, H. (1991) Free radicals and heavy metal tolerance. Idézve: Rozema, J., Verkleij, J. A. C. (szerk.) *Ecological responses to environmental stresses*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 22-33.
- De Vos, C. H. R., Vonk, M. J., Vooijs, R., Schat, H. (1992) Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*. *Plant Physiol* 98: 853-858.
- Devos, K. M., Gale, M. D. (1993) Extended genetic maps of the homoeologous group 3 of wheat, rye and barley. *Theor Appl Genet* 85: 649-652.
- Devos, K. M., Bryan, G. J., Collins, A. J., Stephenson, P., Gale, M. D. (1995) Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor Appl Genet* 90: 247-252.
- Devos, K. M., Gale, M. D. (1997) Comparative genetics in the grasses. *Plant Mol Biol* 35: 3-15.
- Di Toppi, L. S., Lambardi, M., Pazzagli, L., Capuggi, G., Durante, M., Gabbriellini, R. (1999) Response to cadmium in carrot *in vitro* plants and cell suspension cultures. *Plant Science* 137: 119-129.
- Drager, D. B., Desbrosses-Fonrouge, A. G., Krach, C., Chardonens, A. N., Meyer, R. C., Saumitou-Laprade, P., Kramer, U. (2004) Two genes encoding *Arabidopsis halleri* MTP1 transport proteins co-segregate with zinc tolerance and account for high MTP1 transcript levels. *Plant J* 39: 425-439.
- Dubcovsky, J., Maria, G. S., Epstein, E., Luo, M. C., Dvorak, J. (1996) Mapping of the K⁺/Na⁺ discrimination locus in wheat. *Theor Appl Genet* 92: 448-454.
- Dupuis, J. (1994) *Statistical Problems Associated with Mapping Complex and Quantitative Traits from Genomic Mismatch Scanning Data*. Ph.D. Thesis, Stanford University, Department of Statistics.
- Ebbs, D. S., Kochian, L. V. (1997) Toxicity of zinc and copper to *Brassica* species: implications for phytoremediation. *J Environ Quality* 26: 776-778.
- Edwards, M. D., Stuber, C. W., Wendel, J. F. (1987) Molecular-marker-facilitated

- investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and type of gene action. *Genetics* 116: 113-125.
- Eleftheriou, E. P., Karataglis, S. (1989) Ultrastructural and Morphological Characteristics of Cultivated Wheat Growing on Copper-Polluted Fields. *Botanica Acta* 102: 134-140.
- El Gindy, M. M., Lamb, C. A., Burrell, R. C. (1957) Influence of variety, fertilizer treatment, and soil on the composition on the protein content and mineral composition of wheat, flour, and flour fraction. *Cereal Chem* 34: 185-195.
- Endo, T. R., Gill, B. S. (1996) The deletion stocks of common wheat. *J Heredity* 87: 295-307.
- Erdei, L., Trivedi, S., Takeda, K., Matsumoto, H. (1990) Effects of osmotic and salt stresses on the accumulation of polyamines in leaf segments from wheat varieties differing in salt and drought tolerance. *J Plant Physiol* 137: 165-168.
- Feingold, E., Brown, P. O., Siegmund, D. (1993) Gaussian models for genetic linkage analysis using complete high-resolution maps of identity by descent. *Am J Hum Genet* 53: 234-251.
- Fernandes, J. C., Henriques, F. S. (1991) Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Bot Rev* 57: 246-273.
- Flores, H. E., Galston, A. W. (1982) Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant Physiol* 69: 701-706.
- Forster, B. P., Gorham, J., Taeb, M. (1988) The use of genetic stocks in understanding and improving the salt tolerance of wheat. In: Jorna, M. L., Sloodmaker, L. A. J. (eds.), Cereal breeding related to integrated cereal production. *Proc. of the Conf. of Cereal section of EUCARPIA*, p 87-91. Pudoc, Wageningen.
- Forster, B. P., Phillips, M. S., Miller, T. E., Baird, E., Powell, W. (1990) Chromosome location of genes controlling tolerance to salt (NaCl) and vigour in *Hordeum vulgare* and *H. chilense*. *Heredity* 65: 99-107.
- Forster, B. P. (1992) Genetic-engineering for stress tolerance in the *Triticeae*. *Proc. of the Royal Society of Edinburgh Section B-Biological Sciences* 99: 89-106.
- Foy, C. D., Chaney, R. L., White, M. C. (1978) The physiology of metal toxicity in plants. *Ann Rev Plant Physiol* 29: 511-566.
- Foy, C. D. (1983a) Plant adaptation to mineral stress in problem soils. *Iowa State Journal of Research* 57: 339-354.
- Foy, C. D. (1983b) The physiology of plant adaptation to mineral stress. *Iowa State Journal of Research* 57: 355-391.
- Gale, M. D., Devos, K. M. (1998) Comparative genetics in the grasses. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 1971-1974
- Galiba, G., Simon-Sarkadi, L., Kocsy, G., Salgo, A., Sutka, J. (1992) Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat. *Theor Appl Genet* 85: 415-418.
- Galiba, G., Kocsy, G., Kaur-Sauwhney, R., Sutka, J., Galston, A. W. (1993) Chromosomal localization of osmotic and salt stress-induced differential alterations in polyamine content in wheat. *Plant Sci* 92: 203-211.
- Galiba, G., Quarrie, S. A., Sutka, J., Morgounov, A., Snape, J. W. (1995) RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosomes 5A of wheat. *Theor Appl Genet* 90: 1174-1179.
- Galiba, G. (2002) Mapping of genes regulating abiotic stress tolerance in cereals. *Acta Agron Hung* 50: 235-247.
- Gallego, F. J., Benito, C. (1997) Genetic control of aluminium tolerance in rye (*Secale cereale* L.). *Theor Appl Genet* 95: 393-399.
- Galston, A. W., Kaur-Sawhney, R. (1995) Polyamines as endogenous growth regulators. In: *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 2nd Ed., Davies, P.

- J. (ed.) pp. 158-178, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, ISBN 0-7923-2984-8.
- Ganeva, G., Landjeva, S., Merakchijiska (2003) Effects of chromosome substitutions on copper toxicity tolerance in wheat seedlings. *Biol Plantarum* 47: 621-623.
- Gartside, D. W., McNeilly, T. (1974) The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. II. Copper tolerance in normal populations of different plant species. *Heredity* 32: 335-348.
- Gekeler, W., Grill, W., Winnacker, E.-L., Zenk, M. H. (1989) Survey of the plant kingdom for the ability to bind heavy metals through phytochelatins. *Z Naturforschung Teil C* 44: 361-369.
- Ghanbari, H. A., Mameesh, M. S. (1971) Iron, zinc, manganese, and copper content of semidwarf wheat varieties grown under different agronomic conditions. *Cereal Chem* 48: 411-415.
- Godbold, D. L., Horst, W. J., Collins, J. C., Thurman, D. A., Marschner, H. (1984) Accumulation of zinc and organic acids in roots of Zn tolerant and nontolerant ecotypes of *Deschampsia caespitosa*. *J Plant Physiol* 116: 59-69.
- Goldsbrough, P. (2000) Metal tolerance in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. In: Terry, N., Banuelos, G. (szerk.). *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press LLC, 221-233.
- Graner, A., Jahoor, A., Schondelmaier, J., Siedler, H., Pillen, F., Fischbeck, G., Wenzel, G., Herrmann, R. G. (1991) Construction of RFLP map of barley. *Theor Appl Genet* 83: 250-256.
- Green, D. E., Fry, M., Blondin, G. A. (1980) Phospholipids as the molecular instruments of ion and solute transport in biological membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 257-261.
- Grill, E., Winnacker, E.-L., Zenk, M. H. (1985) Phytochelatins: The principle heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230: 674-676.
- Gupta, P. K., Varshney, R. K. (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica* 113: 163-185.
- Gupta, P., Balyan, H., Edwards, K., Isaac, P., Korzun, V., Röder, M., Gautier, M.-F., Joudrier, P., Schlatter, A., Dubcovsky, J., De la Pena, R., Khairallah, M., Penner, G., Hayden, M., Sharp, P., Keller, B., Wang, R., Hardouin, J., Jack, P., Leroy, P. (2002) Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet* 105: 413-422.
- Győri, D. (1984) *A talaj termékenységsege*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Ha, S. B., Smith, A. P., Howden, R., Dietrich, W. M., Bugg, S., O'Connell, M. J., Goldsbrough, P. B., Cobbett, C. S. (1999) Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Plant Cell* 11: 1153-1163.
- Haldane, J. B. S. (1919) The combination of linkage values, and the calculation of distance between the loci of linked factors. *J Genet* 8: 299-309.
- Haley, C. S., Knott, S., A. (1992) A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69: 315-324.
- Hall, J. L. (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J Exp Bot* 53: 1-11.
- Hall, J. L., Williams, L. E. (2003) Transition metal transporters in plants. *J Exp Bot* 54: 2601-2613.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1986) Iron and free radical reactions: two aspects of antioxidant protection. *Trends Biochemical Science* 11: 375.
- Hamer, D. H., Thiele, D. J., Lemontt, J. E. (1985) Function and autoregulation of yeast copperthionein. *Science* 228: 685-690.

- Hazlett, P. W., Rutherford, G. K., Van Loon, G. W. (1983) Metal contaminants in surface soils and vegetation as a result of nickel/copper smelting at Coniston, Ontario, Canada. *Reclam and Reveget Research* 2: 123-137.
- Heun, M., Kennedy, A. E., Anderson, J. A., Lapitan, N. L. V., Sorrels, M. E., Tanksley, S. D. (1991) Construction of restriction fragment length polymorphism map for barley (*Hordeum vulgare*). *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 3691-3695.
- Hofmann, T., Kells, D. I. C., Lane, B. G. (1984) Partial amino acid sequence of the wheat germ E_c-protein. Comparison with another protein very rich in half-cysteine and glycine – wheat germ agglutinin. *Can J Biochem Cell Biol* 62: 908-913.
- Hough, R. L., Breward, N., Young, S. D., Crout, N. M. J., Tye, A. M., Moir, A. M., Thornton, I. (2004) Assessing potential risk of heavy metal exposure from consumption of home-produced vegetables by urban populations. *Environmental Health Perspectives* 112: 215-221.
- Howden, R., Goldsbrough, P. B., Andersen, C. R., Cobbett, C. S. (1995) Cadmium-sensitive, cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient. *Plant Physiol* 107: 1059-1066.
- Jackson, P. J., Unkefer, C. J., Doolen, J. A., Watt, K., Robinson, N. J. (1987) Poly(gamma-glutamylcysteinyl)glycine: its role in cadmium resistance in plant cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 6619-6623.
- Jansen, R. C. (1993) Interval mapping of multiple quantitative trait loci. *Genetics* 135: 205-211.
- Jansen, R. C. (1994) Controlling the type I and type II errors in mapping quantitative trait loci. *Genetics* 138: 871-881.
- Jansen, R. C., Stam, P. (1994) High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447-1455.
- Jefferies, S. P., Barr, A. R., Karakousis, A., Kretschmer, J. M., Manning, S., Chalmers, K. J., Nelson, J. C., Islam, A. K. M. R., Langridge, P. (1999) Mapping of chromosome regions conferring boron toxicity tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 98: 1293-1303.
- Jefferies, S. P., Pallotta, M. A., Paull, J. G., Karakousis, A., Kretschmer, J. M., Manning, S., Islam, A. K. M. R., Langridge, P., Chalmers, K. J. (2000) Mapping and validation of chromosome regions conferring boron toxicity tolerance in wheat (*Triticum aestivum*). *Theor Appl Genet* 101: 767-777.
- Jiang, L. Y., Yang, X. E., Shi, W. Y., Ye, Z. Q., He, Z. L. (2004) Copper uptake and tolerance in two contrasting ecotypes of *Elsholtzia argyi*. *Journal of Plant Nutrition* 27: 2067-2083.
- Johnstone, M., Grof, C. P. L., Brownell, P. F. (1988) The effect of sodium nutrition on the pool sizes of intermediates of the C₄ photosynthetic pathway. *Aust J Plant Physiol* 15: 749-760.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1984) *Trace elements in soil and plants*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Kádár, I., Lásztity, B. (1979) Az őszi búza tápanyagfelvételének tanulmányozása szabadföldi kísérletben. *Agrokémia és talajtan* 28: 451-469.
- Kádár, I. (1993) Adatok a közlekedés, település és az ipar által okozott nehézfémzennyezés megítéléséhez. *Növénytermelés* 42: 185-190.
- Kägi, J. H. R., Kojima, Y. (1987) Chemistry and biochemistry of metallothionein. In: *Metallothionein II*, Kägi, J. H. R., Kojima, Y. (szerk.), Experientia Supplement Vol. 52., Birkhauser Verlag, Basel, 25-61.
- Kanazawa, K., Mihashi, S., Nishizawa, N.-K., Chino, M., Mori, S. (1993) Biosynthetic pathway of phytosiderophores in iron-deficient graminaceous plants: A new assay

- system for the detection of nicotianamine aminotransferase activity. *Plant Soil* 155/156: 103-105.
- Karataglis, S. (1987) Estimation of the toxicity of Different Metals, Using as Criterion the Degree of Root Elongation in *Triticum aestivum* Seedlings. *Phyton* (Austria) 26: 209-217.
- Kawashima, I., Inokuchi, Y., Chino, M., Kimura, M., Shimizu, N. (1991) Isolation of a gene for metallothionein-like protein from soybean. *Plant Cell Physiol* 32: 913-916.
- Kawashima, I., Kennedy, T. D., Chino, M., Lane, B. (1992) Wheat E_c metallothionein genes: Like mammalian Zn²⁺ metallothionein genes are conspicuously expressed during embryogenesis. *Eur J Biochem* 209: 971-976.
- Kearsey, M. J., Farquhar, A. G. L. (1998) QTL analysis in plants; Were are we now? *Heredity* 80: 137-142.
- King, I. P., Forster, B. P., Law, C. C., Cant, K. A., Orford, S. E., Gorham, J., Reader, S., Miller, T. E. (1997) Introgression of salt-tolerance genes from *Thinopyrum bessarabicum* into wheat. *New Phytol* 137: 75-81.
- Kleese, P. A., Rasmussen, D. C., Smith, H. L. (1968) Genetic and environmental variation in mineral accumulation in barley, wheat and soybeans. *Crop Science* 8: 591-593.
- Koebner, R. M. D., Summers, R. W. (2003) 21st century wheat breeding: plot selection or plate detection? *Trends Biotech* 21: 59-63.
- Kondo, N., Imai, K., Isobe, M., Goto, T., Murasagi, A., Wada-Nakagawa, C., Hayashi, Y. (1984) Cadystin-A and B, major unit peptides comprising cadmium binding peptides induced in fission yeast – separation, revision of structures and synthesis. *Tetrahedron Letters* 25: 3869-3872.
- Kosambi, D. D. (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen* 12: 172-175.
- Krämer, U., Cotter-Howells, J. D., Charnock, J. M., Baker, A. J. M., Smith, J. A. C. (1996) Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379: 635-638.
- Kumar, P. B. N. A. N., Dushenkov, S., Motto, H., Raskin, I. (1995) Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ Sci Technol* 29: 1232-1238.
- Lanaras, T., Moustakas, M., Symenoidis, L., Diamantoglou, S., Karataglis, S. (1993) Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements on field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiol Plant* 88: 307-314.
- Lander, E., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M. J., Lincoln, S. E., Newburg, L. (1987) MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural population. *Genomics* 1: 174-181.
- Lander, E. S., Botstein, D. (1989) Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 129: 185-199.
- Landjeva, S., Merakchijska, M., Ganeva, G. (1998) Seedling copper tolerance and cytogenetic characterization of wheat-*Aegilops ovata* hybrid lines. *Wheat Information Service* 87: 27-30.
- Lane, B., Kajioka, R., Kennedy, T. (1987) The wheat germ E_c protein is a zinc-containing metallothionein. *Biochem Cell Biol* 65: 1001-1005.
- Lane, S. D., Martin, E. S., Garrod, J. F., (1978) Lead toxicity effects on indole-3-Y-acetic-acid-induced cell elongation. *Planta* 144: 79-84.
- Lane, T. W., Morel, F. M. (2000) A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 4627-4631.
- Lásztity, B. (1988) A műtrágyázás hatása az őszi búza mikroelem felvételére és eloszlására a tenyésztési folyamán. *Növénytermelés* 37: 345-356.
- Lee, J., Reeves, R. D., Brooks, R. R., Jaffré, T. (1977) Isolation and identification of a citrato-complex of nickel from nickel-accumulating plants. *Phytochem* 16: 1503-1505.

- Lee, M. (1995) DNA markers and plant breeding programs. *Adv Agron* 55: 265-344.
- Levitt, J. (1980) *Responses of plants to Environmental Stresses*, Vol. 1, 2nd ed. Academic Press, New York.
- Li, Y. M., Chaney, R., Brewer, E., Roseberg, R., Angle, J. S., Baker, A. J. M., Reeves, R., Nelkin, J. (2003) Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations. *Plant Soil* 249: 107-115.
- Litt, M., Luty, J. A. (1989) A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet* 44: 397-401.
- Lohwasser, U., Röder, M. S., Börner, A. (2004) QTL mapping of vegetative characters in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings of the XVIIth EUCARPIA General Congress*, Tulln, Austria, 8-11 September 2004, 195-198.
- Loneragan, J. F. (1981) Distribution and movement of copper in plants. In: *Copper in Soils and Plants*. Loneragan, J. F., Robson, A. D., Graham, R. D. (szerk.), Academic Press, New York, 165-188.
- Lyon, G. L., Peterson, P. J., Brooks, R. R. (1969) Chromium-51 distribution in tissues and extracts of *Leptospermum scoparium*. *Planta* 88: 282-287.
- Maathuis, F. J. M., Ichida, A. M., Sanders, D., Schroeder, J. I. (1997) Roles of higher plant K⁺ channels. *Plant Physiol* 114: 1141-1149.
- Macnair, M. R. (1993) The genetics of metal tolerance in vascular plants. *New Phytol* 124: 541-559.
- Maitani, T., Kubota, H., Sato, K., Yamada, T. (1996) The composition of metal bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum*. *Plant Physiol* 110: 1145-1150.
- Malone, C., Koeppe, D. E., Miller, R. J. (1974) Localisation of lead accumulated by corn plants. *Plant Physiol* 53: 388-394.
- Mannix, J., Rodriguez, R. M. (1967) Estudio sobre la toxicidad de cobre accumulative en los suelos del litoral Pacifico Sur de Costa Rica. In: *13th Reunión Anual de PCCMCA*, 77-80.
- Manyowa, N. M. (1989) *The genetics of aluminium, excess boron, copper and manganese stress tolerance in the tribe Triticeae and its implication for wheat improvement*. PhD Thesis, Cambridge University, Cambridge, England.
- Manyowa, N. M., Miller, T. E. (1991) The genetics of tolerance to high mineral concentrations on the tribe *Triticeae* - a review and update. *Euphytica* 57: 175-185.
- Marchiol, L., Assolari, S., Sacco, P., Zerbi, G. (2004) Phytoextraction of heavy metals by canola (*Brassica napus*) and radish (*Raphanus sativus*) grown on multicontaminated soil. *Environ Poll* 132: 21-27.
- Marino, C. L., Nelson, J. C., Lu, Y. H., Sorrells, M. E., Leroy, P., Tuleen, N. A., Lopes, C. R., Hart, G. E. (1996) Molecular genetics maps of the group 6 chromosomes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). *Genome* 39: 359-366.
- Marschner, H. (1995) *Mineral nutrition of higher plants*. (Third Edition), Academic Press, New York.
- Mäser, P., Thomine, S., Schroeder, J. I. Wad, J. M., Hirschi, K., Sze, H., Talke, I. N., Amtmann, A., Maathuis, F. J. M., Sanders, D., Harper, J. F., Tchieu, J., Gribskov, M., Persans, M. W., Salt, D. E., Kim, S. A., Guerinot, M. L. (2001) Phylogenetic relationships within cation transporter families of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 126: 1646-1667.
- Masters, B. A., Kelly, E. J., Quaife, C. J., Brinster, R. L., Palmiter, R. D. (1994) Targeted disruption of metallothionein I and II genes increases sensitivity to cadmium. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 584-588.

- Mathys, W. (1977) The role of malate, oxalate and mustard oil glucosides in the evolution of zinc-resistance in herbage plants. *Physiol Plant* 40: 130-136.
- Maywald, F., Weigel, H. J. (1997) Zur Biochemie und Molekularbiologie der Schwermetallaufnahme und -speicherung bei höheren Pflanzen. *Landbauforschung Völkenrode Heft* 3/1997: 103-126.
- McBride, M. B. (1981) Forms and distribution of copper in solid and solution phases of soil. Idézve: *Copper in Soils and Plants*, 25-45. Loneragan, J. F., Robson, A. D., Graham, R. D. (szerk.), Academic Press, New York.
- Meharg, A. A. (1993) The role of plasmalemma of metal tolerance of angiosperms. *Physiol Plant* 88: 191-198.
- Mehra, R. K., Tripathi, R. D. (1999) Phytochelatins and metal tolerance. In: Agrawal, S. B., Agrawal, M. (szerk.), *Environmental pollution and plant responses*. Boca Raton, FL, CRC Press, Lewis Publisher, 367-382.
- Meneguzzo, S., Navarri-Izzo, F., Izzo, R. (2000) NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedlings. *J Plant Physiol* 156:711-716.
- Michelmore, R. W., Paran, ., Kesseli, R. V. (1991) Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9828-9832.
- Miller, T. E., Reader, S. M., King, I. P. (1992) Aluminium tolerant wheat. *IPSR and JIC Annual Report* 1992, 5.
- Mohan, M., Nair, S., Bentur, J. S., Rao, U. P., Benett, J. (1994) RFLP and RAPD mapping of the rice *Gm2* gene that confers resistance to biotype 1 of gall midge (*Orseolia oryzae*). *Theor Appl Genet* 87: 782-788.
- Morgante, M., Olivieri, A. M. (1993) PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J* 3: 175-182.
- Mori, S., Nishizawa, N. (1989) Identification of barley chromosome 4H, possible encoder of genes of mugineic acid synthesis from 2'-deoxymugineic acid using wheat-barley addition lines. *Plant Cell Physiol* 30: 1057-1061.
- Mori, S., Kishi-Nishizawa, N., Fujigaki, J. (1990) Identification of rye chromosome 5R as the carrier of the gene for mugineic acid synthase and 3-hydroxymugineic acid synthase using wheat-rye addition lines. *Jpn J Genet* 65: 343-352.
- Mori, S., Nishizawa, N., Hayashi, H., Chino, M., Yoshimura, E., Ishihara, J. (1991) Why are young rice plants highly susceptible to iron deficiency? In: *Iron Nutrition and Interactions in Plants*. Chen, Y., Hadar, Y. (szerk.), Kluwer Academic Publishing, Dordrecht, 177-188.
- Mortvedt, J. J., Cox, F. R., Shuman, L. M., Welch, R. M. (1991) *Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed. Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Moustakas, M., Ouzounidou, G., Symeonidis, L. (1997) Field study of the effects of excess copper on wheat photosynthesis and productivity. *Soil Sci Plant Nutr* 43: 531-539.
- Murphy, A., Taiz, L. (1995a) A new vertical mesh transfer technique for metal-tolerance studies in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 108: 29-38.
- Murphy, A., Taiz, L. (1995b) Comparison of metallothionein gene expression and nonprotein thiols in ten *Arabidopsis* ecotypes. *Plant Physiol* 109: 945-954.
- Nagy, I. (1999) Továbbfejlesztett PCR-alapú polimorfizmus vizsgálati technikák. *Növénytermelés* 48: 421-434.
- Nelson, J. C., Van Deynze, A. E., Autrique, E., Sorrells, M. E., Lu, Y. H., Merlino, M., Atkinson, M., Leroy, P. (1995a) Molecular mapping of wheat: homoeologous group 2. *Genome* 38: 516-523.

- Nelson, J. C., Van Deynze, A. E., Autrique, E., Sorrells, M. E., Lu, Y. H., Negre, S., Bernard, M., Leroy, P. (1995b) Molecular mapping of wheat: homoeologous group 3. *Genome* 38: 524-533.
- Nelson, J. C., Sorrells, M. E., Van Deynze, A. E., Lu, Y. H., Atkinson, M., Bernard, M., Leroy, P., Faris, J. D., Anderson, J. A. (1995c) Molecular mapping of wheat: major genes and rearrangements in homoeologous groups 4, 5, and 7. *Genetics* 141: 721-731.
- Neumann, D., Lichtenberger, O., Günther, D., Tschiersch, K., Nover, L. (1994) Heat-shock proteins induce heavy-metal tolerance in higher plants. *Planta* 194: 360-367.
- Neumann, D., Nieden, U. Z., Lichtenberger, O., Leopold, I. (1995) How does *Armeria maritima* tolerate high heavy metal concentration? *J Plant Physiol* 146: 704-717.
- Nian, H., Yang, Z. M., Ahn, S. J., Cheng, Z. J., Matsumoto, H. (2002) A comparative study on the aluminium- and copper-induced organic acid exudation from wheat roots. *Physiol Plant* 116: 328-335.
- Nie, L., Shah, S., Rashid, A., Burd, G. I., Dixon, D. G., Glick, B. R. (2002) Phytoremediation of arsenate contaminated soil by transgenic canola and the plant growth-promoting bacterium *Enterobacter cloacae* CAL2. *Plant Physiol Biochem* 40: 355-361.
- Nieboer, E., Richardson, D. H. S. (1980) The replacement of the nondescript term 'heavy metal' by a biologically significant and chemically significant classification of metal ions. *Environ Poll B1*: 3-26.
- Niemeyer, H. M., Jerez, J. M. (1997) Chromosomal location of genes for hydroxamic acid accumulation in *Triticum aestivum* L. (wheat) using wheat aneuploids and wheat substitution lines. *Heredity* 79: 10-14.
- Nies, D. H., Silver, S. (1989) Plasmid-determined inducible efflux is responsible for resistance to cadmium, zinc, and cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *J Bacteriol* 171: 896-900.
- Noctor, G., Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49: 249-279.
- Nriagu, J. O. (1988) *Environ Poll* 50: 131-161, Idézve: Alloway, B. J. (szerk.), (1990) *Heavy metals in soils*. Blackie and Son Ltd, Glasgow-London, 339 p.
- Ohata, T., Kanazawa, K., Mihashi, S., Nishizawa, N.-K., Fzushiya, S., Nozoe, S., Chino, M., Mori, S. (1993) Biosynthetic pathway of phytosiderophores in iron-deficient graminaceous plants: development of an assay system for the detection of nicotianamine aminotransferase activity. *Soil Sci Plant Nutr* 39: 745-749.
- Ortiz, D. F., Ruscitti, T., McCue, K. F., Ow, D. W. (1995) Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-types vacuolar membrane protein. *J Biol Chem* 270: 4721-4728.
- Owuoche, J. O., Briggs, K. G., Taylor, G. J. (1996) The efficiency of copper use by 5A/5RL wheat-rye translocation lines and wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Plant Soil* 180: 113-120.
- Papoyan, A., Kochian, L. V. (2004) Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance. Characterization of a novel heavy metal transporting ATPase. *Plant Physiol* 136: 3814-3823.
- Paull, J. G., Rathjen, A. J., Cartwright, B. (1988) Genetic control of tolerance to high concentrations of boron in wheat. In: Miller, T. E., Koebner, R. M. D. (szerk.), *Proc 7th Int Wheat Genet Symp*, Cambridge, England, 871-877.
- Pearson, J. N., Rengel, Z. (1994) Distribution and remobilization of Zn and Mn during grain development in wheat. *J Exp Bot* 45: 1829-1835.
- Pearson, J. N., Rengel, Z. (1995) Uptake and distribution of ⁶⁵Zn and ⁵⁴Mn in wheat grown at sufficient and deficient levels of Zn and Mn. II. During grain development. *J Exp Bot* 46: 841-845.

- Pestsova, E. G., Börner, A., Röder, M. S. (2001) Development of a set of *Triticum aestivum* – *Aegilops tauschii* introgression lines. *Hereditas* 135: 139-143.
- Peterson, C. J., Johnson, V. A., Mattern, P. J. (1983) Evaluation of variation in mineral element concentration in wheat flour and bran of different cultivars. *Cereal Chem* 60: 450-455.
- Petit, J.-M., Briat, J.-F., Lobréaux, S. (2001) Structure and differential expression of the four members of the *Arabidopsis thaliana* ferritin gene family. *Biochem J* 359: 575-582.
- Piepho, H.-P. (2003) *Biometrie*. Institut für Pflanzenbau und Grünland, FG Bioinformatik, Universität Hohenheim.
- Prasad, M. N. V. (1999) Metallothioneins and metal binding complexes in plants. In: Prasad, M. N. V., Hagemeyer, J. (eds.) *Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems*. Berlin, Springer Verlag, 51-72.
- Prohászka, H. (1978) Néhány talajtulajdonság hatása a talaj és a rajta termett búza Mn, Zn, Cu tartalmára. *Növénytermelés* 27: 77-83.
- Qi, L., Echalié, B., Friebe, B., Gill, B. S. (2003) Molecular characterization of a set of wheat deletion stocks for use in chromosome bin mapping of ESTs. *Funct Integr Genomics* 3: 39-55.
- Ramesh, S. A., Choimes, S., Schachtman, D. P. (2004) Over-expression of an *Arabidopsis* zinc transporter in *Hordeum vulgare* increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. *Plant Mol Biol* 54: 373-385.
- Raskin, I., Nanda Kumar, P. B. A., Dushenkov, S., Salt, D. E. (1994) Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5: 285-290.
- Rauser, W. E. (1995) Phytochelatins and related peptides. Structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiol* 109: 1141-1149.
- Rauser, W. E. (1999) Structure and function of metal chelators produced by plants. *Cell Biochem Biophys* 31: 19-48.
- Rea, P. A. (1999) MRP subfamily ABC transporters from plants and yeast. *J Exp Bot* 50: 895-913.
- Rebai, A., Goffinet, B., Mangin, B. (1994) Approximate thresholds of interval mapping tests for QTL detection. *Genetics* 138: 235-240.
- Reuther, W., Smith, P. F. (1954) Symposium: Minor elements in relation to soil factors. Toxic effects of accumulated copper in Florida soils. *Soil Sci Soc Florida Proc* 14: 17-23.
- Reynolds, T. L., Crawford, R. L. (1996) Changes in abundance of an abscisic acid-responsive, early cysteine labeled metallothionein transcript during pollen embryogenesis in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Mol Biol* 32: 823-829.
- Rivetta, A., Negrini, N., Cocucci, M. (1997) Involvement of Ca^{2+} -calmodulin in Cd^{2+} toxicity during the early phase of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. *Plant Cell Environment* 20: 600-608.
- Röder, M. S., Plaschke, J., König, U. S., Börner, A., Sorrells, M. E., Tanksley, S. D., Ganai, M. W. (1995) Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol Gen Genet* 246: 327-333.
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.-H., Leroy, P., Ganai, M. W. (1998) A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007-2023.
- Römheld, V., Marschner, H. (1986) Mobilization of iron in the rhizosphere of different plant species. *Adv Plant Nutr* 2: 155-204.
- Sagner, S., Kneer, R., Wanner, G., Cosson, J. P., Deus-Neumann, B., Zenk, M.-H. (1998) Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata*. *Phytochem* 47: 339-347.
- Salem, K. F. M., Röder, M., Börner, A. (2004) Molecular mapping of quantitative trait loci (QTLs) determining post-anthesis drought tolerance in hexaploid wheat (*Triticum*

- aestivum* L.). In: 7. Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, GPZ-Tagung, Vortragsveranstaltung zum Thema: „Klimatische und edaphische Sortenanpassung und Züchtung für nachwachsende Rohstoffe“, 3-5 March 2004, Halle/Saale, Germany, Vortr. Pflanzenzüchtung 64: 21-24.
- Salt, D. E., Prince, R. C., Pickering, I. J., Raskin, I. (1995) Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiol* 109: 1427-1433.
- Salt, D. E., Rauser, W. E. (1995) MgATP-dependent transport of phytochelatins across the tonoplast of oat roots. *Plant Physiol* 107: 1293-1301.
- Salt, D. E., Smith, R. D., Raskin, I. (1998) Phytoremediation. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49:643-668.
- Salunkhe, D., Desphande, S. S. (1991) Micronutritional efficiency in crop plants – a new challenge for cytogenetic research. *Current Topics in Plant Cytogenetics Related to Plant Improvement* (szerk. Lelley, T.) WUV-Univ.-Verl. Wien, Austria, 91-101.
- Sax, K. (1923) The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8: 552-560.
- Schat, H., Llugany, M., Bernhard, R. (2000) Metal-specific patterns of tolerance, uptake and transport of heavy metals in hyperaccumulating and nonhyperaccumulating metallophytes. In: Terry, N., Banuelos, G., eds. *Phytoremediation of contaminated soils and water*. CRC Press LLC, 171-188.
- Schlegel, R., Kynast, R., Schwarzacher, T., Roemheld, V., Walter, A. (1993) Mapping of genes for copper efficiency in rye and the relationship between copper and iron efficiency. *Plant Soil* 154: 61-65.
- Schlegel, R., Cakmak, I. (1997) Micronutritional efficiency in crop plants - a new challenge for cytogenetic research. *Current Topics in Plant Cytogenetics related to Plant Improvement* 97, 91-101.
- Schmöger, M. E. V., Oven, M., Grill, E. (2000) Detoxification of arsenic by phytochelatins in plants. *Plant Physiol* 122: 793-801.
- Scholz, G. (1989) Effect of nicotianamine on iron remobilization in de-rooted tomato seedlings. *Biol Metals* 2: 89-91.
- Schützendübel, A., Polle, A. (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J Exp Bot* 53: 1351-1365.
- Seaton, G. (szerző): *QTL Cafe*: <http://latte.cap.ed.ac.uk/cafe>, Plant Genetics Group, University of Birmingham.
- Serrano, R. (1990) Plasma membrane ATPase. In: Larsson, C., Møller, I. M. (eds.) *The Plant Plasma Membrane*. Springer-Verlag, Berlin, 127-154.
- Silver, S., Misra, T. K. (1988) Plasmid-mediated heavy metal resistances. *Ann Rev Microbiol* 42: 717-473.
- Silver, S. (1996) Bacterial resistance to toxic metal ions – a review. *Gene* 179: 9-19.
- Smilde, K. W. (1981) Heavy metal accumulation in crops grown on sewage sludge amended with metal salts. *Plant Soil* 62: 3-14.
- Snape, J. W., Wright, A. J., Simpson, E. (1984) Methods for estimating gene numbers for quantitative characters using doubled haploid lines. *Theor Appl Genet* 67: 143-148.
- Snape, J. W., Semikhodskii, A., Fish, L., Sarma, R. N., Quarrie, S. A., Galiba, G., Sutka, J. (1997) Mapping frost tolerance loci in wheat and comparative mapping with other cereals. *Acta Agron Hung* 45: 265-270.
- Somers, D. J., Isaac, P., Edwards, K. (2004) A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109: 1105-1114.
- Sposito, G., Bingham, F. T. (1981) Computer modelling of trace metal speciation in soil solution: correlation with trace metal uptake by higher plants. *J Plant Nutrition* 3: 35-49.
- Stangoulis, J. C. R., Reid, R. J., Brown, P. H., Graham, R. D. (2001) Kinetic analysis of boron

- transport in Chara. *Planta* 213: 142-146.
- StatSoft, Inc. (2001) *STATISTICA* (data analysis software system), version 6.0, www.statsoft.com.
- Stefanovics, P. (1995) Talaj és környezet. A talaj környezeti tompítóképessége. *Agrokémia és talajtan* 44: 279-283.
- Stephan, U. W., Scholz, G. (1993) Nicotianamine: mediator of transport of iron and heavy metals in the phloem? *Physiol Plant* 88: 522-529.
- Stohs, S. J., Bagchi, D. (1995) Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biol Med* 18:321-336.
- Strange, J., Macnair, M. R. (1991) Evidence for a role for the cell membrane in copper tolerance of *Mimulus guttatus* Fischer ex. DC. *New Phytol* 119: 383-388.
- Strasdeit, H., Duhme, A. K., Kneer, R., Zenk, M. H., Hermes, C., Nolting, H. F. (1991) Evidence for discrete (Cd(SCys)₄) units in cadmium phytochelatin complexes from EXAFS spectroscopy. *Journal of the Chemical Society Series of Chemical Communications* 1129-1130.
- Sugiura, Y., Nomoto, K. (1984) Phytosiderophores structures and properties of mugineic acids and their metal complexes. *Structure Bonding* 58: 107-135.
- Sutka, J., Snape, J. W. (1989) Location of a gene for frost resistance on chromosome 5A of wheat. *Euphytica* 42: 41-44.
- Sutka, J., Galiba, G., Vágújfalvi, A., Gill, B. S., Snape, J. W. (1999) Physical mapping of the *Vrn-A1* and *Fr1* genes on chromosome 5A of wheat using deletion lines. *Theor Appl Genet* 99: 199-202.
- Sutka, J. (2004) Növényi citogenetika. Mezőgazda Kiadó, Bp, ISBN 963 286 170 1, p. 232.
- Suzuki, K., Higuchi, K., Nakanishi, H., Nishizawa, N. K., Mori, S. (1999) Cloning of nicotianamine synthase genes from *Arabidopsis thaliana*. *Soil Sci Plant Nutrition* 45: 993-1002.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology*, Third Edition, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA., ISBN 0-87893-823-0.
- Tari, I., Szalai, G., Lőrincz, Zs., Bálint, A. (2002) Changes in thiol content in roots of wheat cultivars exposed to copper stress. *Biol Plantarum* 45: 255-260.
- Tautz, D., Trick, M., Dover, G. A. (1986) Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature* 322: 652-656.
- Taylor, G. J., Foy, C. D. (1985) Differential uptake and toxicity of ionic and chelated copper in *Triticum aestivum*. *Can J Botany* 63: 1271-1275.
- Taylor, G. J. (1987) Exclusion of metals from the symplasm: a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. *J Plant Nutrition* 10: 1213-1222.
- Tchuldjian, H. (1978) *Chemical forms of copper in the soil and their toxicity for plants in the processes of industrial contamination*. Ph.D. Thesis, Agr. Acad., Sofia, 1978 (in Bulgarian).
- Tiffin, L. O. (1972) Translocation of micronutrients in plants. In: *Micronutrients in Agriculture*. Mortvedt, J. J., Giordano, P. M., Lindsay, W. H. (szerk.), Soil Science Society of America, Madison, WI, 199-229.
- Tommasini, R., Vogt, E., Fromeneau, M., Hoertensteiner, S., Matile, P., Amrhein, N., Martinoia, E. (1998) An ABC transporter of *Arabidopsis thaliana* has both glutathione-conjugate and chlorophyll catabolite transport activity. *Plant J* 13: 773-780.
- Tóth, B., Galiba, G., Fehér, M., Sutka, J., Snape, J. W. (2003) Mapping genes affecting flowering time and frost resistance on chromosome 5B of wheat. *Theor Appl Genet* 107: 509-514.

- Turner, A. P., Watmough, S. A., Dickinson, N. M. (1993) Ecotoxicology of 60 years copper, cadmium and zinc processing in North-West England. In: *Int Conf on Heavy Metal in the Environment*, Vol. 2: 578-581.
- Turner, R. G. (1970) The subcellular distribution of zinc and copper within the roots of metal-tolerant clones of *Agrostis tenuis* Sibth. *New Phytol* 69: 725-731.
- Turner, R. G., Marshall, C. (1971) The accumulation of ^{65}Zn by root homogenates of zinc-tolerant and non-tolerant clones of *Agrostis tenuis* Sibth. *New Phytol* 70: 539-545.
- Turner, R. G., Marshall, C. (1972) The accumulation of zinc by subcellular fractions of roots of *Agrostis tenuis* Sibth. in relation to zinc tolerance. *New Phytol* 71: 671-676.
- Underwood, B. A., Smitasiri, S. (1999) Micronutrient malnutrition: policies and programs for control and their implications. *Ann Rev Nutr* 19: 303-324.
- Uribe, E. G., Stark, B. (1982) Inhibition of photosynthetic energy conversion by cupric ion. Evidence for Cu^{2+} -coupling factor 1 interaction. *Plant Physiol* 69: 1040-1045.
- Utsunomiya, T. (1980) Japanese Patent Application No:55-72959, Kokai, S. 57-190.
- Vágújfalvi, A., Kerepesi, I., Galiba, G., Tischner, T., Sutka, J. (1999) Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat. *Plant Sci* 144: 85-92.
- Van Assche, F., Clijsters, H. (1986) Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effect on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *J Plant Physiol* 125: 355-360.
- Van Ooijen, J. W. (2003) *MapQTL*[®]5, Software for the calculation of QTL position on genetic maps, Kyazma B. V., Wageningen, Netherlands.
- Van Ooijen, J. W., Voorrips, R. E. (2001) *JoinMap*[®]3.0, Software for the calculation of the genetic linkage maps. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.
- Varshney, R. K., Korzun, V., Börner, A. (2004) Molecular maps in cereals: methodology and progress. In: *Cereal Genomics* (szerk.: Gupta, P. K., Varshney, R. K.), Kluwer Academics, Netherlands, 35-82.
- Verkleij, J. A. C., Schat, H. (1990) Mechanisms of metal tolerance in higher plants. In: Shaw, A. J. (szerk.), *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 179-193.
- Vreugdenhil, D., Aarts, M. G. M., Koornneef, M., Nelissen, H., Ernst, W. H. O. (2004) Natural variation and QTL analysis for cationic mineral content in seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ* 27: 828-839.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., Zabeau, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 23: 4407-4414.
- Wagner, G. J. (1993) Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Adv Agron* 51: 173-212.
- Walker, C. D., Webb, J. (1981) Copper in plants: forms and behaviour. In: *Copper in Soils and Plants*. szerk.: Loneragan, J. F., Robson, A. D., Graham, R. D., Academic Press, New York, 189-212.
- Welch, R. M. (1986) Effects of nutrient deficiencies on seed production and quality. *Adv Plant Nutr* 2: 205-247.
- Welch, R. M. (1995) Micronutrient nutrition of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 14: 49-82.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Res* 18: 6531-6535.
- White, M. C., Decker, A. M., Chaney, R. L. (1981a) Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato and soybean stem exudate. *Plant Physiol* 67: 292-

- 300.
- White, M. C., Baker, F. D., Chaney, R. L., Decker, A. M. (1981b) Metal complexation in xylem fluid. II. Theoretical equilibrium model and computational computer program. *Plant Physiol* 67: 301-310.
- White, M. C., Chaney, R. L., Decker, A. M. (1981c) Metal complexation in xylem fluid. III. Electrophoretic evidence. *Plant Physiol* 67: 311-315.
- Wollgiehn, R., Neumann, D. (1999) Metal stress response and tolerance of cultured cells from *Silene vulgaris* and *Lycopersicon peruvianum*: role of heat stress proteins. *J Plant Physiol* 154: 547-553.
- Wong, H. M., Bradshaw, A. D. (1982) A comparison of toxicity of heavy metals using root elongation of ryegrass, *Lolium perenne*. *New Phytol* 91: 255-261.
- Wu, G., Wilen, R. W., Robertson, A. J., Gusta, L. V. (1999) Isolation, chromosomal localization, and differential expression of mitochondrial manganese superoxide dismutase and chloroplastic copper/zinc superoxide dismutase genes in wheat. *Plant Physiol* 120: 513-520.
- Xiang, C., Oliver, D. J. (1998) Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 1539-1550.
- Xu, S., Patterson, G. (1985) The biochemical effects of cadmium on sterol biosynthesis by soybean suspension culture. *Current Topics of Plant Biochemistry and Physiology* 4: 245.
- Yu, W., Santhanagopalan, V., Sewell, A. K., Jensen, L. T., Winge, D. R. (1994) Dominance of metallothionein in metal ion buffering in yeast capable of synthesis of (gamma EC)G isopeptides. *J Biol Chem* 269: 21010-21015.
- Zeng, Z.-B. (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.
- Zenk, M. H. (1996) Heavy metal detoxification in higher plants – a review. *Gene* 179: 21-30.
- Zhou, J., Goldsbrough, P. B. (1994) Functional homologs of fungal metallothionein genes from *Arabidopsis*. *Plant Cell* 6: 875-884.

8. FÜGGELÉK

8.1. táblázat. A szubsztitúciós sorozatok réztolerancia tesztelésénél alkalmazott ültetési rend a véletlen blokkelrendezésű kísérletekben

8.1A. táblázat. Első ismétlés (kontroll I. és kezelt I.):

CS	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H
CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B	Cs	Ch	H	CD	Ts	B

8.1B. táblázat. Második ismétlés (kontroll II. és kezelt II.):

B	B	Ch	Cs	Ts	H	CD	CD	H	B	Ch	Cs	Ts	CD	Ch
Ts	Ch	B	CD	Cs	Cs	Ch	B	Cs	CD	H	H	Ts	H	Ts

8.1C. táblázat. Harmadik ismétlés (kontroll III. és kezelt III.):

Ts	CD	B	Ch	Cs	Ts	Ts	H	Ch	B	B	Ch	CD	H	B
H	H	Cs	CD	Ch	B	Cs	CD	Ch	Ts	Ts	Cs	CD	Cs	H

Rövidítések: Ch = 'Cheyenne', CD = 'Cappelle Desprez', B = 'Bánkúti1201', Ts = *Triticum spelta*, H = 'Hope', CS = 'Chinese Spring'.

8.2. táblázat. Az réztolerancia tesztekhez felhasznált 'ITMI' búza térképezési populációból származó RIL-ek listája és a két szülői vonal

No.	Genotípus		
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Opata85'	26	ITMI-54
	'W7984' Synthetic	27	ITMI-55
1	ITMI-1	28	ITMI-62
2	ITMI-2	29	ITMI-64
3	ITMI-4	30	ITMI-65
4	ITMI-7	31	ITMI-66
5	ITMI-11	32	ITMI-67
6	ITMI-13	33	ITMI-69
7	ITMI-14	34	ITMI-70
8	ITMI-15	35	ITMI-71
9	ITMI-16	36	ITMI-75
10	ITMI-19	37	ITMI-77
11	ITMI-20	38	ITMI-78
12	ITMI-24	39	ITMI-83
13	ITMI-26	40	ITMI-84
14	ITMI-31	41	ITMI-85
15	ITMI-32	42	ITMI-88
16	ITMI-34	43	ITMI-89
17	ITMI-35	44	ITMI-90
18	ITMI-36	45	ITMI-91
19	ITMI-37	46	ITMI-92
20	ITMI-39	47	ITMI-93
21	ITMI-40	48	ITMI-94
22	ITMI-41	49	ITMI-95
23	ITMI-43	50	ITMI-96
24	ITMI-46	51	ITMI-97
25	ITMI-50	52	ITMI-98
		53	ITMI-100

Az elemtartalom vizsgálatokhoz felhasznált RIL-ek **vastag** betűvel vannal jelölve.

8.3. táblázat. 5A kromoszómára rekombináns beltenyésztett vonalak, melyek a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' keresztezésből származnak, és a szülői vonalak

No.	Genotípus	Eredet
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' Mv57-1	2002, MgKi
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(<i>Tspelta</i> 5A)' Mv58-1	2002, MgKi
1	Mv-c14-3	2002, MgKi
2	Mv-c14-4	2002, MgKi
3	Mv-c26-5	2002, MgKi
4	Mv-c30-3	2002, MgKi
5	Mv-c36-1	2002, MgKi
6	Mv-c37-1	2002, MgKi
7	Mv-c46-1	2002, MgKi
8	Mv-c50-1	2002, MgKi
9	Mv-c50-2	2002, MgKi
10	Mv-c53-2	2002, MgKi
11	Mv-c58-3	2002, MgKi
12	Mv3-4	2002, MgKi
13	Mv7-3	2002, MgKi
14	Mv9-2	2002, MgKi
15	Mv9-5	2002, MgKi
16	Mv9-8	2002, MgKi
17	Mv11-5	2002, MgKi
18	Mv11-6	2002, MgKi
19	Mv12-4	2002, MgKi
20	Mv66-1	2002, MgKi
21	Mv14-3	2002, MgKi
22	Mv14-4	2002, MgKi
23	Mv14-9	2003, MgKi
24	Mv15-1	2002, MgKi
25	Mv15-3	2003, MgKi
26	Mv15-4	2002, MgKi
27	Mv15-8	2002, MgKi
28	Mv16-2	2002, MgKi
29	Mv19-6	2002, MgKi

30	Mv19-8	2002, MgKi
31	Mv20-3	2002, MgKi
32	Mv22-8	2002, MgKi
33	Mv23-2	2002, MgKi
34	Mv25-2	2002, MgKi
35	Mv26-8	2002, MgKi
36	Mv26-10	2002, MgKi
37	Mv28-7	2002, MgKi
38	Mv28-10	2002, MgKi
39	Mv31-6	2002, MgKi
40	Mv31-10	2002, MgKi
41	Mv32-5	2002, MgKi
42	Mv32-7	2002, MgKi
43	Mv32-8	2002, MgKi
44	Mv33-8	2002, MgKi
45	Mv34-3	2002, MgKi
46	Mv36-1	2002, MgKi
47	Mv36-2	2002, MgKi
48	Mv37-2	2002, MgKi
49	Mv40-2	2002, MgKi
50	Mv40-3	2002, MgKi
51	Mv41-6	2002, MgKi
52	Mv44-10	2002, MgKi
53	Mv45-8	2002, MgKi
54	Mv46-8	2002, MgKi
55	Mv46-9	2002, MgKi
56	Mv67-7	2002, MgKi
57	Mv69-2	2002, MgKi
58	Mv72-6	2002, MgKi
59	Mv74-7	2002, MgKi
60	Mv74-10	2002, MgKi
61	Mv80-7	2002, MgKi
62	Mv82-5	2002, MgKi

8.4. táblázat. 5B kromoszómára rekombináns beltenyésztett vonalak, melyek a 'CS' x 'CS(Ch5B)' keresztezésből származnak és a szülői vonalak

No.	Genotípus	Eredet
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring'	Izolált, 2002, MTA MgKi
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Cheyenne'	IPK-Gatersleben
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(Cheyenne5B)'	Izolált, 2002, MTA MgKi
1	CS(Ch5B) 1-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
2	CS(Ch5B) 2-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
3	CS(Ch5B) 3-10	Izolált, 2001, MTA MgKi
4	CS(Ch5B) 4-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
5	CS(Ch5B) 4-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
6	CS(Ch5B) 5-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
7	CS(Ch5B) 7-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
8	CS(Ch5B) 7-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
9	CS(Ch5B) 8-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
10	CS(Ch5B) 9-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
11	CS(Ch5B) 10-4	Izolált, 2001, MTA MgKi
12	CS(Ch5B) 11-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
13	CS(Ch5B) 12-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
14	CS(Ch5B) 12-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
15	CS(Ch5B) 12-5	Izolált, 2001, MTA MgKi
16	CS(Ch5B) 14-1	Izolált, 2001, MTA MgKi
17	CS(Ch5B) 14-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
18	CS(Ch5B) 14-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
19	CS(Ch5B) 15-2	Izolált, 2001, MTA MgKi
20	CS(Ch5B) 17-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
21	CS(Ch5B) 18-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
22	CS(Ch5B) 18-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
23	CS(Ch5B) 20-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
24	CS(Ch5B) 21-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
25	CS(Ch5B) 22-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
26	CS(Ch5B) 22-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
27	CS(Ch5B) 23-1	Izolált, 2001, MTA MgKi

28	CS(Ch5B) 23-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
29	CS(Ch5B) 27-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
30	CS(Ch5B) 27-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
31	CS(Ch5B) 27-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
32	CS(Ch5B) 27-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
33	CS(Ch5B) 28-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
34	CS(Ch5B) 29-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
35	CS(Ch5B) 29-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
36	CS(Ch5B) 30-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
37	CS(Ch5B) 31-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
38	CS(Ch5B) 32-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
39	CS(Ch5B) 35-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
40	CS(Ch5B) 36-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
41	CS(Ch5B) 37-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
42	CS(Ch5B) 38-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
43	CS(Ch5B) 41-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
44	CS(Ch5B) 41-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
45	CS(Ch5B) 42-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
46	CS(Ch5B) 43-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
47	CS(Ch5B) 43-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
48	CS(Ch5B) 43-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
49	CS(Ch5B) 45-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
50	CS(Ch5B) 50-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
51	CS(Ch5B) 51-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
52	CS(Ch5B) 52-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
53	CS(Ch5B) 52-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
54	CS(Ch5B) 52-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
55	CS(Ch5B) 54-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
56	CS(Ch5B) 54-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
57	CS(Ch5B) 58-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
58	CS(Ch5B) 58-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
59	CS(Ch5B) 59-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
60	CS(Ch5B) 60-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
61	CS(Ch5B) 62-6	Izolált, 2002, MTA MgKi

8.5. táblázat. Génbanki anyag réztoleranciájának vizsgálata során a vizsgált paraméterek közötti korrelációs koefficiensek értékei.

	SZT Kont	SZT Kezelt	Flu1 Kont	Flu1 Kezelt	Flu2 Kont	Flu2 Kezelt	Cu Kont	Cu Kezelt	ΣCu Kont	ΣCu Kezelt	Fe Kont	Fe Kezelt	TI Flu2	TI SZT
SZT Kont	1													
SZT Kezelt	0.8937***	1												
Flu1 Kont	-0.0164	0.0401	1											
Flu1 Kezelt	-0.2501	0.0305	0.4383*	1										
Flu2 Kont	0.2167	0.1999	0.3383	0.0823	1									
Flu2 Kezelt	-0.0163	0.1054	-0.2998	-0.3538	-0.0537	1								
Cu Kont	-0.0955	0.0311	-0.3330	-0.0795	-0.1633	0.3291	1							
Cu Kezelt	-0.5996***	-0.5949**	-0.0476	-0.0562	-0.0606	0.2916	0.3159	1						
ΣCu Kont	0.6687***	0.6837***	-0.1670	-0.2319	0.0737	0.2277	0.6590***	-0.2182	1					
ΣCu Kezelt	0.2819	0.3523	0.0753	-0.0251	0.2738	0.4171*	0.4052*	0.4461*	0.5253**	1				
Fe Kont	0.2641	0.1287	-0.2502	-0.4268*	-0.1283	0.1112	0.4173*	0.1068	0.5493**	0.3082	1			
Fe Kezelt	-0.3941*	-0.3610	-0.0759	-0.0245	-0.1104	0.2845	0.0795	0.4192*	-0.2246	0.0070	0.1326	1		
TI Flu2	-0.0299	0.0921	-0.3196	-0.3581	-0.1099	0.9984***	0.3376	0.2968	0.2218	0.4016*	0.1188	0.2915	1	
TI SZT	-0.0202	0.4144*	0.0610	0.5842**	0.0324	0.2656	0.2774	-0.0853	0.1840	0.2679	-0.1817	0.0332	0.2619	1

Korrelációs koefficiensek szignifikáns küszöbértékei: $r_{0,05}$: 0.3809, $r_{0,01}$: 0.4764, $r_{0,001}$: 0.5974. Szabadsági fokok száma: 25. Jelölés: *, **, ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 ill. 0.001 %-os szinten, NS: nem szignifikáns. A szignifikáns értékek kék színnel kiemelték. Rövidítések: SZT Kont: Kontroll száraztömeg, SZT Kezelt: kezelt száraztömeg, Flu1 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu1 Kezelt: kezelt F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu2 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 18 napos korban, Flu2 Kezelt: Kezelt F_v/F_m érték 18 napos korban, Cu Kont: Kontroll hajtás Cu koncentráció, Cu Kezelt: kezelt hajtás Cu koncentráció, ΣCu Kont: Kontrol összes hajtás réztartalom, ΣCu Kezelt: kezelt összes hajtás réztartalom, Fe Kont: kontroll hajtás Fe koncentráció, Fe Kezelt: kezelt hajtás Fe koncentráció, TI Flu2: Tolerancia Index a 18 napos korban mért F_v/F_m értékek alapján, TI SZT: Tolerancia Index a száraztömeg értékek alapján.

8.6. táblázat. A vizsgált paraméterek közötti korrelációs együtthatók értékei rézkezelt hexaploid búzáknál.

	SZT Kont	SZT Kezelt	Flu1 Kont	Flu1 Kezelt	Flu2 Kont	Flu2 Kezelt	Cu Kont	Cu Kezelt	Σ Cu Kont	Σ Cu Kezelt	Fe Kont	Fe Kezelt	TI Flu2	TI SZT
SZT Kont	1													
SZT Kezelt	0.4387	1												
Flu1 Kont	0.0216	0.2985	1											
Flu1 Kezelt	-0.6040	0.1821	0.0694	1										
Flu2 Kont	0.6537	-0.0513	-0.1007	-0.9713 ***	1									
Flu2 Kezelt	-0.0406	0.2425	-0.2837	-0.3128	0.3426	1								
Cu Kont	-0.2465	0.4485	0.5432	0.2044	-0.0958	0.2214	1							
Cu Kezelt	0.0748	-0.1829	0.4036	-0.6437	0.51084	0.4159	0.1203	1						
Σ Cu Kont	-0.0258	0.5848	0.5746	0.0727	0.0478	0.2527	0.9737 ***	0.1640	1					
Σ Cu Kezelt	0.3359	0.3008	0.4994	-0.5913	0.5325	0.5246	0.3292	0.8782 **	0.4459	1				
Fe Kont	0.0948	0.4604	0.2115	-0.2903	0.3654	0.6751	0.7546 *	0.4369	0.8103 *	0.6741	1			
Fe Kezelt	0.2829	0.4003	-0.3308	0.3192	-0.1488	-0.2269	-0.1875	-0.8378 *	-0.1360	-0.6141	-0.3683	1		
TI Flu2	-0.0896	0.2453	-0.2880	-0.2534	0.2816	0.9979 ***	0.2301	0.3884	0.2512	0.4953	0.6623	-0.2218	1	
TI SZT	-0.3828	0.6606	0.3082	0.6598	-0.5630	0.3070	0.6959	-0.2182	0.6533	0.0603	0.4258	0.1601	0.3489	1

Korrelációs együtthatók szignifikáns küszöbértékei: $r_{0.05}$: 0.7545, $r_{0.01}$: 0.8745, $r_{0.001}$: 0.9508. Szabadsági fokok száma: 5. Jelölés: *, **, ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 ill. 0.001 %-os szinten. A szignifikáns értékek kék színnel kiemelve. Rövidítések: SZT Kont: Kontroll száraztömeg, SZT Kezelt: kezelt száraztömeg, Flu1 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu1 Kezelt: kezelt F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu2 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 18 napos korban, Flu2 Kezelt: Kezelt F_v/F_m érték 18 napos korban, Cu Kont: Kontroll hajtás Cu koncentráció, Cu Kezelt: kezelt hajtás Cu koncentráció, Σ Cu Kont: Kontroll összes hajtás réztartalom, Σ Cu Kezelt: kezelt összes hajtás réztartalom, Fe Kont: kontroll hajtás Fe koncentráció, Fe Kezelt: kezelt hajtás Fe koncentráció, TI Flu2: Tolerancia Index a 18 napos korban mért F_v/F_m értékek alapján, TI SZT: Tolerancia Index a száraztömeg értékek alapján.

8.7. táblázat. A vizsgált jellegek közötti korrelációhoz tartozó korrelációs együtthatók a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat réztoleranciájának vizsgálata során

Vizsgált jelleg	Korrelációs együttható (r)
Kontroll hajtáshossz – Kontroll száraztömeg	0.6206 **
Rézkezelt hajtáshossz – Rézkezelt száraztömeg	0.8705 ***
Cu-tolerancia (hajtáshossz) – Cu-tolerancia (hajtásszáraztömeg)	0.8824 ***
Kontroll hajtáshossz – Cu-tolerancia (hajtáshossz)	-0.0091 NS
Kontroll hajtás száraztömeg – Cu-tolerancia (hajtásszáraztömeg)	-0.1739 NS
Rézkezelt hajtáshossz – Cu-tolerancia (hajtáshossz)	0.8508 ***
Rézkezelt hajtás száraztömeg – Cu-tolerancia (hajtás száraztömeg)	0.9131 ***

Jelmagyarázat: ** és ***: szignifikáns $P \leq 0.01$ ill. 0.001 %-os szinten, NS: nem szignifikáns.

8.8. táblázat. Mikroszatellit markerek térképezése 'Chinese Spring'-ben és 'Chinese Spring' 5AL homozigóta deléciós vonalakon

No	Marker	Hossz (bp)	Eredetileg térképezve	CS	CS 5AL- 23	CS 5AL- 20	CS 5AL- 17	CS 5AL-6	CS 5AL- 15	CS 5AL-8	CS 5AL- 10
1.	<i>Xgwm126</i>	195	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
2.	<i>Xgwm154</i>	104	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	<i>Xgwm156</i>	314	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	<i>Xgwm186</i>	137	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	<i>Xgwm410</i>	265	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
6.	<i>Xgwm865</i>	172	NT	+	-	-	-	-	-	-	-
7.	<i>Xgwm982</i>	130	ITMI	+	+	+	-	-	-	-	-
8.	<i>Xgwm995</i>	170	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
9.	<i>Xgwm1171</i>	158	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	<i>Xgwm1205</i>	140	NT	+	+	+	+	+	+	+	+
11.	<i>Xgwm1236</i>	148	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+

Jelmagyarázat: . +: a marker jelen van a vizsgált vonalban; -: a marker nincs jelen a vizsgált vonalban; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.9. táblázat. Mikroszatellit markerek térképezése 'Chinese Spring'-en és 'Chinese Spring' 5DL homoizógóta deléciós vonalakon

No	Marker	Hossz (bp)	Eredetileg térképezve	CS	CS 5DL- 5	CS 5DL- 9	CS 5DL- 2
1.	<i>Xgwm182</i>	165	ITMI	+	+	+	-
2.	<i>Xgwm190</i>	213	ITMI	+	+	+	+
3.	<i>Xgwm205</i>	141	ITMI	+	+	+	+
4.	<i>Xgwm212</i>	103	ITMI	+	-	-	-
5.	<i>Xgwm292</i>	214	ITMI	+	+	+	+
6.	<i>Xgwm358</i>	166	ITMI	+	+	+	+
7.	<i>Xgwm565</i>	152	ITMI	+	-	-	-
8.	<i>Xgwm583</i>	163	ITMI	+	+	+	+
9.	<i>Xgwm639</i>	134	ITMI	+	+	+	+
10.	<i>Xgwm805</i>	243	ITMI	+	-	-	-
11.	<i>Xgwm902</i>	146	ITMI	+	-	-	-
12.	<i>Xgwm931</i>	271	ITMI	+	-	-	-
13.	<i>Xgwm960</i>	171	ITMI	+	+	+	+
14.	<i>Xgwm1039</i>	137	ITMI	+	+	+	+
15.	<i>Xgwm1072</i>	115	ITMI	+	-	-	-
16.	<i>Xgwm1122</i>	115	ITMI	+	+	+	+
17.	<i>Xgwm1226</i>	166	NT	+	+	+	+
18.	<i>Xgwm1252</i>	114	ITMI	+	+	+	+

Jelmagyarázat: +: a marker jelen van a vizsgált vonalban; -: a marker nincs jelen a vizsgált vonalban; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.10. táblázat. A 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring(*T.spelta*5A)' búza térképezési populáció térképezéséhez felhasznált polimorf mikroszatellit markerek

No	Marker	Eredetileg térképezve	CS (bp)	Ch (bp)	CS (Ch5A) (bp)	CS (Tsp5A) (bp)
1.	<i>Xgwm126</i>	ITMI	195	195	195	190
2.	<i>Xgwm154</i>	ITMI	104	98	98	114
3.	<i>Xgwm156</i>	ITMI	314	314	314	318
4.	<i>Xgwm186</i>	ITMI	137	99	99	119
5.	<i>Xgwm205</i>	ITMI	151	155	155	151
6.	<i>Xgwm241</i>	NT	146	129	129	135
7.	<i>Xgwm293</i>	ITMI	200	196	196	190
8.	<i>Xgwm304</i>	ITMI	210	210	210	196
9.	<i>Xgwm410</i>	ITMI	265	267	267	-
10.	<i>Xgwm617</i>	ITMI	-	169	169	167
11.	<i>Xgwm639</i>	ITMI	-	-	-	148
12.	<i>Xgwm865</i>	NT	172	172	172	140
13.	<i>Xgwm982</i>	ITMI	130	130	130	118
14.	<i>Xgwm995</i>	ITMI	104, 174	104, 170	104, 170	113
15.	<i>Xgwm1171</i>	ITMI	158	158	158	-
16.	<i>Xgwm1205</i>	NT	140	140	140	-
17.	<i>Xgwm1236</i>	ITMI	148	142	142	124

Jelölések: CS: 'Chinese Spring'; Ch: 'Cheyenne'; Tsp: *Triticum spelta*; - : fragment nem detektálható; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.11. táblázat. Adott markerpozícióban a megfelelő szülői allélt hordozó vonalak száma a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' térképezési populáció 62 SCR vonalán

No	Marker	Ch5A fragment	Tsp5A fragment	CS5A fragment	Hiányzó SCR-ek
1.	<i>Xgwm126</i>	29	33	-	-
2.	<i>Xgwm154</i>	12	34	12	4
3.	<i>Xgwm156</i>	35	26	-	1
4.	<i>Xgwm186</i>	22	25	15	-
5.	<i>Xgwm205</i>	13	49	-	-
6.	<i>Xgwm241</i>	9	34	14	5
7.	<i>Xgwm293</i>	14	36	10	2
8.	<i>Xgwm304</i>	24	35	-	3
9.	<i>Xgwm410</i>	9	35	17	1
10.	<i>Xgwm617</i>	25	24	13	-
11.	<i>Xgwm639</i>	39	23	-	-
12.	<i>Xgwm865</i>	25	36	-	1
13.	<i>Xgwm982</i>	24	31	-	7
14.	<i>Xgwm995</i>	5	36	16	5
15.	<i>Xgwm1171</i>	49	13	-	-
16.	<i>Xgwm1205</i>	44	16	-	2
17.	<i>Xgwm1236</i>	23	18	17	4

8.12. táblázat. A 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' búza térképezési populáció térképezéséhez felhasznált polimorf mikroszatellit markerek

No	Marker	Eredetileg térképezve	CS (bp)	Ch (bp)	CS (Ch5B) (bp)
1.	<i>Xgwm67</i>	ITMI	83	87	87
2.	<i>Xgwm118</i>	NT	109,107	109	109
3.	<i>Xgwm191</i>	ITMI	118	120	120
4.	<i>Xgwm197</i>	NT	-	117	117
5.	<i>Xgwm335</i>	ITMI	-	206	206
6.	<i>Xgwm443</i>	ITMI	141	-	-
7.	<i>Xgwm756</i>	NT	123	128	128
8.	<i>Xgwm790</i>	ITMI	-	158	158
9.	<i>Xgwm810</i>	ITMI	151	145	145
10.	<i>Xgwm996</i>	NT	190	194	194
11.	<i>Xgwm1016</i>	ITMI, NT	167	196	196
12.	<i>Xgwm1043</i>	ITMI	146	138	138
13.	<i>Xgwm1054</i>	ITMI	141	143	143
14.	<i>Xgwm1165</i>	ITMI	147	-	-

Jelölések: CS: 'Chinese Spring'; Ch: 'Cheyenne'; - : fragment nem detektálható; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómas búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.13. táblázat. Adott markerpozícióban a megfelelő szülői allélt hordozó vonalak száma a CS x CS(Ch5B) térképezési populáció 62 SCR vonalán

No	Marker	CS5B fragment	Ch5B fragment	Heterozigóta CS5B és Ch5B fragment	Hiányzó SCR-ek
1.	<i>Xgwm67</i>	34	27	-	-
2.	<i>Xgwm118</i>	33	28	-	-
3.	<i>Xgwm191</i>	33	27	-	1
4.	<i>Xgwm197</i>	30	30	-	1
5.	<i>Xgwm335</i>	32	28	-	1
6.	<i>Xgwm443</i>	24	37	-	-
7.	<i>Xgwm756</i>	34	25	2	-
8.	<i>Xgwm790</i>	41	20	-	-
9.	<i>Xgwm810</i>	31	28	-	2
10.	<i>Xgwm996</i>	33	27	-	1
11.	<i>Xgwm1016</i>	41	20	-	-
12.	<i>Xgwm1043</i>	30	31	-	-
13.	<i>Xgwm1054</i>	31	27	-	3
14.	<i>Xgwm1165</i>	33	28	-	-

8.14. táblázat. A 12 vizsgált paraméter közötti korrelációs koefficiense értékei az 'ITMI' búza térképezési populációnál réztolerancia tesztelése során

Vizsgált Jellemző	Hajtás száraztömeg, kontrol	Hajtás száraztömeg, Cu-kezelt	Cu-tolerancia	Hajtás Cu-koncentráció, kontrol	Hajtás Cu-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Fe-koncentráció, kontrol	Hajtás Fe-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Mn-koncentráció, kontrol	Hajtás Mn-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Zn-koncentráció, kontrol	Hajtás Zn-koncentráció, Cu-kezelt	Cu-akkumuláló képesség
Hajtás száraztömeg, kontrol	-	0.5606 ***	-0.2888 *	-0.1399 NS	0.0457 NS	-0.1485 NS	-0.0439 NS	-0.0107 NS	0.1249 NS	-0.0549 NS	0.1895 NS	0.1760 NS
Hajtás száraztömeg, Cu-kezelt	-	-	0.6228 ***	-0.1645 NS	-0.2479 NS	-0.0349 NS	-0.1848 NS	-0.2975 NS	-0.2051 NS	-0.1477 NS	-0.2096 NS	-0.1384 NS
Cu-tolerancia	-	-	-	-0.0340 NS	-0.2975 NS	0.1037 NS	-0.1667 NS	-0.3186 *	-0.3304 *	-0.1098 NS	-0.4184 **	-0.3138 *
Hajtás Cu-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	0.5647 ***	0.6672 ***	0.1957 NS	0.5314 ***	0.3182 *	0.3535 *	0.0831 NS	-0.2193 NS
Hajtás Cu-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	0.2501 NS	0.4943 ***	0.3698 *	0.6239 ***	0.2882 NS	0.4367 **	0.6760 ***
Hajtás Fe-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	-	-	0.41560 **	0.3038 *	0.0026 NS	0.4460 **	-0.0022 NS	-0.2998 NS
Hajtás Fe-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-0.0103 NS	0.2045 NS	0.3402 *	0.3972 **	0.3993 **
Hajtás Mn-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6369 ***	0.4469 **	0.2260 NS	-0.0508 NS
Hajtás Mn-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5316 ***	0.6399 ***	0.4376 **
Hajtás Zn-koncentráció, Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6705 ***	-0.0105 NS
Hajtás Zn-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4049 **

A korrelációs koefficiens (r) szignifikancia küszöbértékei: Szabadsági fok (SZF)=51, $P_{0.05}=0.270679$, $P_{0.01}=0.35088$, $P_{0.001}=0.4392746$, SZF=40, $P_{0.05}=0.3043852$, $P_{0.01}=0.393117879$, $P_{0.001}=0.4895738$.

*, ** és ***: szignifikáns $P<0.05$, 0.01 és 0.001 szinten, NS: nem szignifikáns. Szignifikáns hatás kék színnel kiemelve.

8.2. táblázat. Az réztolerancia tesztekhez felhasznált 'ITMI' búza térképezési populációból származó RIL-ek listája és a két szülői vonal

No.	Genotípus		
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Opata85'		
	'W7984' Synthetic		
1	ITMI-1	26	ITMI-54
2	ITMI-2	27	ITMI-55
3	ITMI-4	28	ITMI-62
4	ITMI-7	29	ITMI-64
5	ITMI-11	30	ITMI-65
6	ITMI-13	31	ITMI-66
7	ITMI-14	32	ITMI-67
8	ITMI-15	33	ITMI-69
9	ITMI-16	34	ITMI-70
10	ITMI-19	35	ITMI-71
11	ITMI-20	36	ITMI-75
12	ITMI-24	37	ITMI-77
13	ITMI-26	38	ITMI-78
14	ITMI-31	39	ITMI-83
15	ITMI-32	40	ITMI-84
16	ITMI-34	41	ITMI-85
17	ITMI-35	42	ITMI-88
18	ITMI-36	43	ITMI-89
19	ITMI-37	44	ITMI-90
20	ITMI-39	45	ITMI-91
21	ITMI-40	46	ITMI-92
22	ITMI-41	47	ITMI-93
23	ITMI-43	48	ITMI-94
24	ITMI-46	49	ITMI-95
25	ITMI-50	50	ITMI-96
		51	ITMI-97
		52	ITMI-98
		53	ITMI-100

Az elemtartalom vizsgálatokhoz felhasznált RIL-ek **vastag** betűvel vannal jelölve.

8.3. táblázat. 5A kromoszómára rekombináns beltenyésztett vonalak, melyek a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' keresztezésből származnak, és a szülői vonalak

No.	Genotípus	Eredet
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' Mv57-1	2002, MgKi
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(<i>Tspelta</i> 5A)' Mv58-1	2002, MgKi
1	Mv-c14-3	2002, MgKi
2	Mv-c14-4	2002, MgKi
3	Mv-c26-5	2002, MgKi
4	Mv-c30-3	2002, MgKi
5	Mv-c36-1	2002, MgKi
6	Mv-c37-1	2002, MgKi
7	Mv-c46-1	2002, MgKi
8	Mv-c50-1	2002, MgKi
9	Mv-c50-2	2002, MgKi
10	Mv-c53-2	2002, MgKi
11	Mv-c58-3	2002, MgKi
12	Mv3-4	2002, MgKi
13	Mv7-3	2002, MgKi
14	Mv9-2	2002, MgKi
15	Mv9-5	2002, MgKi
16	Mv9-8	2002, MgKi
17	Mv11-5	2002, MgKi
18	Mv11-6	2002, MgKi
19	Mv12-4	2002, MgKi
20	Mv66-1	2002, MgKi
21	Mv14-3	2002, MgKi
22	Mv14-4	2002, MgKi
23	Mv14-9	2003, MgKi
24	Mv15-1	2002, MgKi
25	Mv15-3	2003, MgKi
26	Mv15-4	2002, MgKi
27	Mv15-8	2002, MgKi
28	Mv16-2	2002, MgKi
29	Mv19-6	2002, MgKi

30	Mv19-8	2002, MgKi
31	Mv20-3	2002, MgKi
32	Mv22-8	2002, MgKi
33	Mv23-2	2002, MgKi
34	Mv25-2	2002, MgKi
35	Mv26-8	2002, MgKi
36	Mv26-10	2002, MgKi
37	Mv28-7	2002, MgKi
38	Mv28-10	2002, MgKi
39	Mv31-6	2002, MgKi
40	Mv31-10	2002, MgKi
41	Mv32-5	2002, MgKi
42	Mv32-7	2002, MgKi
43	Mv32-8	2002, MgKi
44	Mv33-8	2002, MgKi
45	Mv34-3	2002, MgKi
46	Mv36-1	2002, MgKi
47	Mv36-2	2002, MgKi
48	Mv37-2	2002, MgKi
49	Mv40-2	2002, MgKi
50	Mv40-3	2002, MgKi
51	Mv41-6	2002, MgKi
52	Mv44-10	2002, MgKi
53	Mv45-8	2002, MgKi
54	Mv46-8	2002, MgKi
55	Mv46-9	2002, MgKi
56	Mv67-7	2002, MgKi
57	Mv69-2	2002, MgKi
58	Mv72-6	2002, MgKi
59	Mv74-7	2002, MgKi
60	Mv74-10	2002, MgKi
61	Mv80-7	2002, MgKi
62	Mv82-5	2002, MgKi

8.4. táblázat. 5B kromoszómára rekombináns beltenyésztett vonalak, melyek a 'CS' x 'CS(Ch5B)' keresztezésből származnak és a szülői vonalak

No.	Genotípus	Eredet
	<i>Triticum aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring'	Izolált, 2002, MTA MgKi
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Cheyenne'	IPK-Gatersleben
	<i>T. aestivum</i> ssp. <i>aestivum</i> 'Chinese Spring(Cheyenne5B)'	Izolált, 2002, MTA MgKi
1	CS(Ch5B) 1-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
2	CS(Ch5B) 2-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
3	CS(Ch5B) 3-10	Izolált, 2001, MTA MgKi
4	CS(Ch5B) 4-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
5	CS(Ch5B) 4-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
6	CS(Ch5B) 5-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
7	CS(Ch5B) 7-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
8	CS(Ch5B) 7-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
9	CS(Ch5B) 8-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
10	CS(Ch5B) 9-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
11	CS(Ch5B) 10-4	Izolált, 2001, MTA MgKi
12	CS(Ch5B) 11-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
13	CS(Ch5B) 12-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
14	CS(Ch5B) 12-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
15	CS(Ch5B) 12-5	Izolált, 2001, MTA MgKi
16	CS(Ch5B) 14-1	Izolált, 2001, MTA MgKi
17	CS(Ch5B) 14-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
18	CS(Ch5B) 14-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
19	CS(Ch5B) 15-2	Izolált, 2001, MTA MgKi
20	CS(Ch5B) 17-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
21	CS(Ch5B) 18-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
22	CS(Ch5B) 18-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
23	CS(Ch5B) 20-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
24	CS(Ch5B) 21-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
25	CS(Ch5B) 22-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
26	CS(Ch5B) 22-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
27	CS(Ch5B) 23-1	Izolált, 2001, MTA MgKi

28	CS(Ch5B) 23-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
29	CS(Ch5B) 27-1	Izolált, 2002, MTA MgKi
30	CS(Ch5B) 27-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
31	CS(Ch5B) 27-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
32	CS(Ch5B) 27-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
33	CS(Ch5B) 28-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
34	CS(Ch5B) 29-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
35	CS(Ch5B) 29-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
36	CS(Ch5B) 30-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
37	CS(Ch5B) 31-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
38	CS(Ch5B) 32-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
39	CS(Ch5B) 35-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
40	CS(Ch5B) 36-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
41	CS(Ch5B) 37-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
42	CS(Ch5B) 38-2	Izolált, 2002, MTA MgKi
43	CS(Ch5B) 41-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
44	CS(Ch5B) 41-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
45	CS(Ch5B) 42-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
46	CS(Ch5B) 43-3	Izolált, 2002, MTA MgKi
47	CS(Ch5B) 43-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
48	CS(Ch5B) 43-9	Izolált, 2002, MTA MgKi
49	CS(Ch5B) 45-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
50	CS(Ch5B) 50-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
51	CS(Ch5B) 51-8	Izolált, 2002, MTA MgKi
52	CS(Ch5B) 52-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
53	CS(Ch5B) 52-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
54	CS(Ch5B) 52-10	Izolált, 2002, MTA MgKi
55	CS(Ch5B) 54-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
56	CS(Ch5B) 54-7	Izolált, 2002, MTA MgKi
57	CS(Ch5B) 58-4	Izolált, 2002, MTA MgKi
58	CS(Ch5B) 58-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
59	CS(Ch5B) 59-6	Izolált, 2002, MTA MgKi
60	CS(Ch5B) 60-5	Izolált, 2002, MTA MgKi
61	CS(Ch5B) 62-6	Izolált, 2002, MTA MgKi

8.5. táblázat. Génbanki anyag réztoleranciájának vizsgálata során a vizsgált paraméterek közötti korrelációs koefficiensek értékei.

	SZT Kont	SZT Kezelt	Flu1 Kont	Flu1 Kezelt	Flu2 Kont	Flu2 Kezelt	Cu Kont	Cu Kezelt	ΣCu Kont	ΣCu Kezelt	Fe Kont	Fe Kezelt	TI Flu2	TI SZ T
SZT Kont	1													
SZT Kezelt	0.8937***	1												
Flu1 Kont	-0.0164	0.0401	1											
Flu1 Kezelt	-0.2501	0.0305	0.4383*	1										
Flu2 Kont	0.2167	0.1999	0.3383	0.0823	1									
Flu2 Kezelt	-0.0163	0.1054	-0.2998	-0.3538	-0.0537	1								
Cu Kont	-0.0955	0.0311	-0.3330	-0.0795	-0.1633	0.3291	1							
Cu Kezelt	-0.5996***	-0.5949**	-0.0476	-0.0562	-0.0606	0.2916	0.3159	1						
ΣCu Kont	0.6687***	0.6837***	-0.1670	-0.2319	0.0737	0.2277	0.6590***	-0.2182	1					
ΣCu Kezelt	0.2819	0.3523	0.0753	-0.0251	0.2738	0.4171*	0.4052*	0.4461*	0.5253**	1				
Fe Kont	0.2641	0.1287	-0.2502	-0.4268*	-0.1283	0.1112	0.4173*	0.1068	0.5493**	0.3082	1			
Fe Kezelt	-0.3941*	-0.3610	-0.0759	-0.0245	-0.1104	0.2845	0.0795	0.4192*	-0.2246	0.0070	0.1326	1		
TI Flu2	-0.0299	0.0921	-0.3196	-0.3581	-0.1099	0.9984***	0.3376	0.2968	0.2218	0.4016*	0.1188	0.2915	1	
TI SZT	-0.0202	0.4144*	0.0610	0.5842**	0.0324	0.2656	0.2774	-0.0853	0.1840	0.2679	-0.1817	0.0332	0.2619	1

Korrelációs koefficiensek szignifikáns küszöbértékei: $r_{0,05}$: 0.3809, $r_{0,01}$:0.4764, $r_{0,001}$:0.5974. Szabadsági fokok száma: 25. Jelölés: *, **, ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 ill. 0.001 %-os szinten, NS: nem szignifikáns. A szignifikáns értékek kék színnel kiemelték. Rövidítések: SZT Kont: Kontroll száraztömeg, SZT Kezelt: kezelt száraztömeg, Flu1 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu1 Kezelt: kezelt F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu2 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 18 napos korban, Flu2 Kezelt: Kezelt F_v/F_m érték 18 napos korban, Cu Kont: Kontroll hajtás Cu koncentráció, Cu Kezelt: kezelt hajtás Cu koncentráció, ΣCu Kont: Kontrol összes hajtás réztartalom, ΣCu Kezelt: kezelt összes hajtás réztartalom, Fe Kont: kontroll hajtás Fe koncentráció, Fe Kezelt: kezelt hajtás Fe koncentráció, TI Flu2: Tolerancia Index a 18 napos korban mért F_v/F_m értékek alapján, TI SZT: Tolerancia Index a száraztömeg értékek alapján.

8.6. táblázat. A vizsgált paraméterek közötti korrelációs koefficiensek értékei rézkezelt hexaploid búzáknál.

	SZT Kont	SZT Kezelt	Flu1 Kont	Flu1 Kezelt	Flu2 Kont	Flu2 Kezelt	Cu Kont	Cu Kezelt	ΣCu Kont	ΣCu Kezelt	Fe Kont	Fe Kezelt	TI Flu2	TI SZT
SZT Kont	1													
SZT Kezelt	0.4387	1												
Flu1 Kont	0.0216	0.2985	1											
Flu1 Kezelt	-0.6040	0.1821	0.0694	1										
Flu2 Kont	0.6537	-0.0513	-0.1007	-0.9713 ***	1									
Flu2 Kezelt	-0.0406	0.2425	-0.2837	-0.3128	0.3426	1								
Cu Kont	-0.2465	0.4485	0.5432	0.2044	-0.0958	0.2214	1							
Cu Kezelt	0.0748	-0.1829	0.4036	-0.6437	0.51084	0.4159	0.1203	1						
ΣCu Kont	-0.0258	0.5848	0.5746	0.0727	0.0478	0.2527	0.9737 ***	0.1640	1					
ΣCu Kezelt	0.3359	0.3008	0.4994	-0.5913	0.5325	0.5246	0.3292	0.8782 **	0.4459	1				
Fe Kont	0.0948	0.4604	0.2115	-0.2903	0.3654	0.6751	0.7546 *	0.4369	0.8103 *	0.6741	1			
Fe Kezelt	0.2829	0.4003	-0.3308	0.3192	-0.1488	-0.2269	-0.1875	-0.8378 *	-0.1360	-0.6141	-0.3683	1		
TI Flu2	-0.0896	0.2453	-0.2880	-0.2534	0.2816	0.9979 ***	0.2301	0.3884	0.2512	0.4953	0.6623	-0.2218	1	
TI SZT	-0.3828	0.6606	0.3082	0.6598	-0.5630	0.3070	0.6959	-0.2182	0.6533	0.0603	0.4258	0.1601	0.3489	1

Korrelációs koefficiensek szignifikáns küszöbértékei: $r_{0,05}$: 0.7545, $r_{0,01}$: 0.8745, $r_{0,001}$: 0.9508. Szabadsági fokok száma: 5. Jelölés: *, **, ***: szignifikáns $P \leq 0.05$, 0.01 ill. 0.001 %-os szinten. A szignifikáns értékek kék színnel kiemelve. Rövidítések: SZT Kont: Kontroll száraztömeg, SZT Kezelt: kezelt száraztömeg, Flu1 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu1 Kezelt: kezelt F_v/F_m érték 13 napos korban, Flu2 Kont: Kontroll F_v/F_m érték 18 napos korban, Flu2 Kezelt: Kezelt F_v/F_m érték 18 napos korban, Cu Kont: Kontroll hajtás Cu koncentráció, Cu Kezelt: kezelt hajtás Cu koncentráció, ΣCu Kont: Kontrol összes hajtás réztartalom, ΣCu Kezelt: kezelt összes hajtás réztartalom, Fe Kont: kontroll hajtás Fe koncentráció, Fe Kezelt: kezelt hajtás Fe koncentráció, TI Flu2: Tolerancia Index a 18 napos korban mért F_v/F_m értékek alapján, TI SZT: Tolerancia Index a száraztömeg értékek alapján.

8.7. táblázat. A vizsgált jellegek közötti korrelációhoz tartozó korrelációs koefficiensek a 'Chinese Spring'/'Cappelle Desprez' szubsztitúciós sorozat réztoleranciájának vizsgálata során

Vizsgált jelleg	Korrelációs koefficiens (r)
Kontrol hajtáshossz – Kontrol száraztömeg	0.6206 **
Rézkezelt hajtáshossz – Rézkezelt száraztömeg	0.8705 ***
Cu-tolerancia (hajtáshossz) – Cu-tolerancia (hajtásszáraztömeg)	0.8824 ***
Control hajtáshossz – Cu-tolerancia (hajtáshossz)	-0.0091 NS
Control hajtás száraztömeg – Cu-tolerancia (hajtásszáraztömeg)	-0.1739 NS
Rézkezelt hajtáshossz – Cu-tolerancia (hajtáshossz)	0.8508 ***
Rézkezelt hajtás száraztömeg – Cu-tolerancia (hajtás száraztömeg)	0.9131 ***

Jelmagyarázat: ** és ***: szignifikáns $P \leq 0.01$ ill. 0.001 %-os szinten, NS: nem szignifikáns.

8.8. táblázat. Mikroszatellit markerek térképezése 'Chinese Spring'-ben és 'Chinese Spring' 5AL homozigóta deléciós vonalakon

No	Marker	Hossz (bp)	Eredetileg térképezve	CS	CS 5AL- 23	CS 5AL- 20	CS 5AL- 17	CS 5AL-6	CS 5AL- 15	CS 5AL-8	CS 5AL- 10
1.	<i>Xgwm126</i>	195	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
2.	<i>Xgwm154</i>	104	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	<i>Xgwm156</i>	314	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	<i>Xgwm186</i>	137	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	<i>Xgwm410</i>	265	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
6.	<i>Xgwm865</i>	172	NT	+	-	-	-	-	-	-	-
7.	<i>Xgwm982</i>	130	ITMI	+	+	+	-	-	-	-	-
8.	<i>Xgwm995</i>	170	ITMI	+	-	-	-	-	-	-	-
9.	<i>Xgwm1171</i>	158	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	<i>Xgwm1205</i>	140	NT	+	+	+	+	+	+	+	+
11.	<i>Xgwm1236</i>	148	ITMI	+	+	+	+	+	+	+	+

Jelmagyarázat: . +: a marker jelen van a vizsgált vonalban; -: a marker nincs jelen a vizsgált vonalban; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.9. táblázat. Mikroszatellit markerek térképezése 'Chinese Spring'-en és 'Chinese Spring' 5DL homozigóta deléciós vonalakon

No	Marker	Hossz (bp)	Eredetileg térképezve	CS	CS 5DL- 5	CS 5DL- 9	CS 5DL- 2
1.	<i>Xgwm182</i>	165	ITMI	+	+	+	-
2.	<i>Xgwm190</i>	213	ITMI	+	+	+	+
3.	<i>Xgwm205</i>	141	ITMI	+	+	+	+
4.	<i>Xgwm212</i>	103	ITMI	+	-	-	-
5.	<i>Xgwm292</i>	214	ITMI	+	+	+	+
6.	<i>Xgwm358</i>	166	ITMI	+	+	+	+
7.	<i>Xgwm565</i>	152	ITMI	+	-	-	-
8.	<i>Xgwm583</i>	163	ITMI	+	+	+	+
9.	<i>Xgwm639</i>	134	ITMI	+	+	+	+
10.	<i>Xgwm805</i>	243	ITMI	+	-	-	-
11.	<i>Xgwm902</i>	146	ITMI	+	-	-	-
12.	<i>Xgwm931</i>	271	ITMI	+	-	-	-
13.	<i>Xgwm960</i>	171	ITMI	+	+	+	+
14.	<i>Xgwm1039</i>	137	ITMI	+	+	+	+
15.	<i>Xgwm1072</i>	115	ITMI	+	-	-	-
16.	<i>Xgwm1122</i>	115	ITMI	+	+	+	+
17.	<i>Xgwm1226</i>	166	NT	+	+	+	+
18.	<i>Xgwm1252</i>	114	ITMI	+	+	+	+

Jelmagyarázat: +: a marker jelen van a vizsgált vonalban; -: a marker nincs jelen a vizsgált vonalban; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.10. táblázat. A 'Chinese Spring(Cheyenne5A)' x 'Chinese Spring(*T.spelta*5A)' búza térképezési populáció térképezéséhez felhasznált polimorf mikroszatellit markerek

No	Marker	Eredetileg térképezve	CS (bp)	Ch (bp)	CS (Ch5A) (bp)	CS (Tsp5A) (bp)
1.	<i>Xgwm126</i>	ITMI	195	195	195	190
2.	<i>Xgwm154</i>	ITMI	104	98	98	114
3.	<i>Xgwm156</i>	ITMI	314	314	314	318
4.	<i>Xgwm186</i>	ITMI	137	99	99	119
5.	<i>Xgwm205</i>	ITMI	151	155	155	151
6.	<i>Xgwm241</i>	NT	146	129	129	135
7.	<i>Xgwm293</i>	ITMI	200	196	196	190
8.	<i>Xgwm304</i>	ITMI	210	210	210	196
9.	<i>Xgwm410</i>	ITMI	265	267	267	-
10.	<i>Xgwm617</i>	ITMI	-	169	169	167
11.	<i>Xgwm639</i>	ITMI	-	-	-	148
12.	<i>Xgwm865</i>	NT	172	172	172	140
13.	<i>Xgwm982</i>	ITMI	130	130	130	118
14.	<i>Xgwm995</i>	ITMI	104, 174	104, 170	104, 170	113
15.	<i>Xgwm1171</i>	ITMI	158	158	158	-
16.	<i>Xgwm1205</i>	NT	140	140	140	-
17.	<i>Xgwm1236</i>	ITMI	148	142	142	124

Jelölések: CS: 'Chinese Spring'; Ch: 'Cheyenne'; Tsp: *Triticum spelta*; - : fragment nem detektálható; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómás búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.11. táblázat. Adott markerpozícióban a megfelelő szülői allélt hordozó vonalak száma a 'CS(Ch5A)' x 'CS(Tsp5A)' térképezési populáció 62 SCR vonalán

No	Marker	Ch5A fragment	Tsp5A fragment	CS5A fragment	Hiányzó SCR-ek
1.	<i>Xgwm126</i>	29	33	-	-
2.	<i>Xgwm154</i>	12	34	12	4
3.	<i>Xgwm156</i>	35	26	-	1
4.	<i>Xgwm186</i>	22	25	15	-
5.	<i>Xgwm205</i>	13	49	-	-
6.	<i>Xgwm241</i>	9	34	14	5
7.	<i>Xgwm293</i>	14	36	10	2
8.	<i>Xgwm304</i>	24	35	-	3
9.	<i>Xgwm410</i>	9	35	17	1
10.	<i>Xgwm617</i>	25	24	13	-
11.	<i>Xgwm639</i>	39	23	-	-
12.	<i>Xgwm865</i>	25	36	-	1
13.	<i>Xgwm982</i>	24	31	-	7
14.	<i>Xgwm995</i>	5	36	16	5
15.	<i>Xgwm1171</i>	49	13	-	-
16.	<i>Xgwm1205</i>	44	16	-	2
17.	<i>Xgwm1236</i>	23	18	17	4

8.12. táblázat. A 'Chinese Spring' x 'Chinese Spring(Cheyenne5B)' búza térképezési populáció térképezéséhez felhasznált polimorf mikroszatellit markerek

No	Marker	Eredetileg térképezve	CS (bp)	Ch (bp)	CS (Ch5B) (bp)
1.	<i>Xgwm67</i>	ITMI	83	87	87
2.	<i>Xgwm118</i>	NT	109,107	109	109
3.	<i>Xgwm191</i>	ITMI	118	120	120
4.	<i>Xgwm197</i>	NT	-	117	117
5.	<i>Xgwm335</i>	ITMI	-	206	206
6.	<i>Xgwm443</i>	ITMI	141	-	-
7.	<i>Xgwm756</i>	NT	123	128	128
8.	<i>Xgwm790</i>	ITMI	-	158	158
9.	<i>Xgwm810</i>	ITMI	151	145	145
10.	<i>Xgwm996</i>	NT	190	194	194
11.	<i>Xgwm1016</i>	ITMI, NT	167	196	196
12.	<i>Xgwm1043</i>	ITMI	146	138	138
13.	<i>Xgwm1054</i>	ITMI	141	143	143
14.	<i>Xgwm1165</i>	ITMI	147	-	-

Jelölések: CS: 'Chinese Spring'; Ch: 'Cheyenne'; - : fragment nem detektálható; ITMI: 'ITMI' búza térképezési populáció (Röder és mtsai., 1998); NT: nulli-tetraszómas búza vonal (Röder, 2004, személyes közlés).

8.13. táblázat. Adott markerpozícióban a megfelelő szülői allélt hordozó vonalak száma a CS x CS(Ch5B) térképezési populáció 62 SCR vonalán

No	Marker	CS5B fragment	Ch5B fragment	Heterozigóta CS5B és Ch5B fragment	Hiányzó SCR-ek
1.	<i>Xgwm67</i>	34	27	-	-
2.	<i>Xgwm118</i>	33	28	-	-
3.	<i>Xgwm191</i>	33	27	-	1
4.	<i>Xgwm197</i>	30	30	-	1
5.	<i>Xgwm335</i>	32	28	-	1
6.	<i>Xgwm443</i>	24	37	-	-
7.	<i>Xgwm756</i>	34	25	2	-
8.	<i>Xgwm790</i>	41	20	-	-
9.	<i>Xgwm810</i>	31	28	-	2
10.	<i>Xgwm996</i>	33	27	-	1
11.	<i>Xgwm1016</i>	41	20	-	-
12.	<i>Xgwm1043</i>	30	31	-	-
13.	<i>Xgwm1054</i>	31	27	-	3
14.	<i>Xgwm1165</i>	33	28	-	-

8.14. táblázat. A 12 vizsgált paraméter közötti korrelációs koefficiense értékei az 'ITMI' búza térképezési populációnál réztolerancia tesztelése során

Vizsgált Jellemző	Hajtás száraztömeg, kontrol	Hajtás száraztömeg, Cu-kezelt	Cu-tolerancia	Hajtás Cu-koncentráció, kontrol	Hajtás Cu-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Fe-koncentráció, kontrol	Hajtás Fe-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Mn-koncentráció, kontrol	Hajtás Mn-koncentráció, Cu-kezelt	Hajtás Zn-koncentráció, kontrol	Hajtás Zn-koncentráció, Cu-kezelt	Cu-akkumuláló képesség
Hajtás száraztömeg, kontrol	-	0.5606 ***	-0.2888 *	-0.1399 NS	0.0457 NS	-0.1485 NS	-0.0439 NS	-0.0107 NS	0.1249 NS	-0.0549 NS	0.1895 NS	0.1760 NS
Hajtás száraztömeg, Cu-kezelt	-	-	0.6228 ***	-0.1645 NS	-0.2479 NS	-0.0349 NS	-0.1848 NS	-0.2975 NS	-0.2051 NS	-0.1477 NS	-0.2096 NS	-0.1384 NS
Cu-tolerancia	-	-	-	-0.0340 NS	-0.2975 NS	0.1037 NS	-0.1667 NS	-0.3186 *	-0.3304 *	-0.1098 NS	-0.4184 **	-0.3138 *
Hajtás Cu-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	0.5647 ***	0.6672 ***	0.1957 NS	0.5314 ***	0.3182 *	0.3535 *	0.0831 NS	-0.2193 NS
Hajtás Cu-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	0.2501 NS	0.4943 ***	0.3698 *	0.6239 ***	0.2882 NS	0.4367 **	0.6760 ***
Hajtás Fe-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	-	-	0.41560 **	0.3038 *	0.0026 NS	0.4460 **	-0.0022 NS	-0.2998 NS
Hajtás Fe-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-0.0103 NS	0.2045 NS	0.3402 *	0.3972 **	0.3993 **
Hajtás Mn-koncentráció, kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6369 ***	0.4469 **	0.2260 NS	-0.0508 NS
Hajtás Mn-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.5316 ***	0.6399 ***	0.4376 **
Hajtás Zn-koncentráció, Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6705 ***	-0.0105 NS
Hajtás Zn-koncentráció, Cu-kezelt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4049 **

A korrelációs koefficiens (r) szignifikancia küszöbértékei: Szabadsági fok (SZF)=51, $P_{0.05}=0.270679$, $P_{0.01}=0.35088$, $P_{0.001}=0.4392746$, SZF=40, $P_{0.05}=0.3043852$, $P_{0.01}=0.393117879$, $P_{0.001}=0.4895738$.

*, ** és ***: szignifikáns $P<0.05$, 0.01 és 0.001 szinten, NS: nem szignifikáns. Szignifikáns hatás kék színnel kiemelve.